

A375-GFP | 305665

Általános információk

Description

Az A375-GFP az A375 nevű humán malignus melanoma sejtvonal genetikailag módosított változata, amely stabil módon expresszálja a fokozott zöld fluoreszcens fehérjét (eGFP). Az A375 szülői sejtvonal egy felnőtt beteg bőrmelanómájából származik, és széles körben használják bőrmelanóma-modellként, különösen az onkogén BRAF-jelátvitelre irányuló kutatásokban, mivel hordozza a BRAF V600E mutációt. Ez a mutáció a MAPK/ERK jelátviteli út konstitutív aktivációjához vezet, ami elősegíti a sejtek szaporodását és túlélését, és így az A375 sejtek rendkívül alkalmasak olyan célzott terápiák vizsgálatára, mint a BRAF- és MEK-gátlók. A GFP-t expresszáló származék megőrzi ezeket a molekuláris és fenotípusos jellemzőket, miközben lehetővé teszi a fluoreszcencia-alapú alkalmazásokat.

Az eGFP-riporter stabil beépítése lehetővé teszi az A375-GFP sejtek valós idejű vizualizálását mind in vitro, mind in vivo rendszerekben. A fluoreszcens képalkotás megkönnyíti a sejtek proliferációjának, migrációjának, inváziójának és morfológiai változásainak nyomon követését, valamint a tumor növekedésének és a metasztatikus terjedésnek a nyomon követését xenotranszplantátum-modellekben. A továbbfejlesztett GFP-variáns jobb fényerőt és stabilitást biztosít a korábbi GFP-konstrukciókhoz képest, így alacsony sejtszám esetén is érzékeny detektálást tesz lehetővé. Ez az A375-GFP-t különösen hasznossá teszi ko-kultúra kísérletekben, nagy felbontású képalkotó platformokon, valamint olyan vizsgálatokban, amelyek a tumorsejtek viselkedésének pontos térbeli felbontását igénylik.

Az A375-GFP megőrzi a szülői melanóma-vonal agresszív és proliferatív fenotípusát, beleértve a MAPK-útvonalgátlókra való reagálóképességet, valamint az inváziós és metasztatikus képességet kísérleti modellekben. A GFP hozzáadása kiterjeszti alkalmazási körét a gyógyszerűrés, az élősejt-képalkotás és a tumor-mikrokörnyezet kölcsönhatásának vizsgálata terén. Más riporterrel jelölt sejtvonalakhoz hasonlóan konkrét kísérleti alkalmazások esetén ajánlott a fluoreszcencia stabilitásának és a passzázsok közötti konzisztenciájának validálása.

Organism Emberi

Tissue Láb, bőr

Disease Amelanotikus melanoma

Jellemzők

Age 54 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Growth properties Adherent

A375-GFP | 305665

Szabályozási adatok

Citation	A375-GFP (Cytion katalógusszám: 305665)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_QZ67
GMO Status	GMO-S1: Ez az emberi A375 melanoma sejtvonal egy fokozott GFP-expressziót biztosító konstrukciót tartalmaz, amelyet fluoreszcens vizualizáció céljából lentivirális vektorral juttattak be. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	ZsGreen1 (zöld fluoreszkáló fehérje)
Mutational profile	Mutáció: BRAF, egyszerű, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigóta (szülősejtvonalból). Mutáció, CDKN2A, egyszerű, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozigóta (szülő sejtvonalból). Mutáció, CDKN2A, egyszerű, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozigóta (szülő sejtvonalból). Mutáció, TERT, egyszerű, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nem meghatározott, megjegyzés=promóterben (szülő sejtvonalból).

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

A375-GFP | 305665**Seeding density** 1–3 x 10⁴ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 200 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.**Shipping Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

A375-GFP | 305665

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA