

## A375-GFP | 305665

## Vispārīga informācija

## Description

A375-eGFP ir ģenētiski modificēts cilvēka ļaundabīgās melanomas šūnu līnijas A375 variants, kas stabili ekspresē pastiprinātu zaļo fluorescējošo proteīnu (eGFP). Sākotnējā A375 šūnu līnija ir iegūta no pieauguša pacienta ādas melanomas audzēja un tiek plaši izmantota kā ādas melanomas modelis, jo īpaši pētījumos, kas saistīti ar onkogēno BRAF signālu pārraidi, jo tajā ir BRAF V600E mutācija. Šī mutācija izraisa MAPK/ERK ceļa konstitutīvu aktivāciju, veicinot proliferāciju un izdzīvošanu, un padarot A375 šūnas ļoti piemērotas mērķtiecīgu terapiju, piemēram, BRAF un MEK inhibitoru, izpētei. eGFP ekspresējošais atvasinājums saglabā šīs molekulārās un fenotipiskās īpašības, vienlaikus ļaujot veikt uz fluorescenci balstītus pētījumus.

Stabila eGFP reportera iekļaušana ļauj reāllaikā vizualizēt A375-eGFP šūnas gan in vitro, gan in vivo sistēmās. Fluorescences attēlveidošana atvieglo šūnu proliferācijas, migrācijas, invāzijas un morfoloģisko izmaiņu uzraudzību, kā arī audzēja augšanas un metastāžu izplatības izsekošanu ksenotransplantātu modeļos. Uzlabotais GFP variants nodrošina labāku spilgtumu un stabilitāti salīdzinājumā ar agrākajiem GFP konstruktiem, ļaujot veikt jutīgu noteikšanu pat pie maza šūnu skaita. Tas padara A375-eGFP īpaši noderīgu kopkultūras eksperimentos, augstas izšķirtspējas attēlveidošanas platformās un pētījumos, kuros nepieciešama precīza audzēja šūnu uzvedības telpiskā izšķirtspēja.

A375-eGFP saglabā vecāku melanomas līnijas agresīvo un proliferatīvo fenotipu, tostarp reaģēšanu uz MAPK ceļa inhibitoriem un spēju invazēt un metastāzēt eksperimentālajos modeļos. eGFP pievienošana paplašina tā lietderību zāļu skrīningam, dzīvo šūnu attēlveidošanai un audzēja un mikroapvidus mijiedarbības pētījumiem. Tāpat kā citu reporteru marķētu šūnu līniju gadījumā, konkrētiem eksperimentāliem pielietojumiem ieteicams pārbaudīt fluorescences stabilitāti un konsekvenci visos pasāžos.

<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Kāja, āda
<b>Disease</b>	Amelanotiskā melanoma

## Raksturojums

<b>Age</b>	54 gadi
<b>Gender</b>	Sievietes
<b>Ethnicity</b>	Kaukāzietis
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

**A375-GFP | 305665****Citation** A375-eGFP (Cytion kataloga numurs 305665)**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_QZ67**GMO Status** GMO-S1: Šī cilvēka A375 melanomas šūnu līnija satur pastiprinātas GFP ekspresijas konstruktus, kas ievadīts ar lentivīrusa vektoru, lai nodrošinātu fluorescences vizualizāciju. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Mutational profile** Mutācija: BRAF, vienkārša, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigota (no vecāku šūnu līnijas). Mutācija, CDKN2A, vienkārša, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozigota (no vecāku šūnu līnijas). Mutācija, CDKN2A, vienkārša, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozigota (no vecāku šūnu līnijas). Mutācija, TERT, vienkārša, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Neprecizēta, Piezīme=Promotorā (no vecāku šūnu līnijas).**Darbs ar****Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

## A375-GFP | 305665

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA