

A375-GFP | 305665

Algemene informatie

Description

A375-eGFP is een genetisch gemodificeerde variant van de menselijke kwaadaardige melanoomcellijn A375, die op stabiele wijze het versterkte groene fluorescerende eiwit (eGFP) tot expressie brengt. De oorspronkelijke A375-cel lijn is afkomstig van een huidmelanoomtumor bij een volwassen patiënt en wordt op grote schaal gebruikt als model voor cutaan melanoom, met name voor studies naar oncogene BRAF-signalering, aangezien deze de BRAF V600E-mutatie bevat. Deze mutatie leidt tot constitutieve activering van de MAPK/ERK-route, wat proliferatie en overleving stimuleert en A375-cellen zeer geschikt maakt voor onderzoek naar gerichte therapieën zoals BRAF- en MEK-remmers. Het eGFP-expresserende derivaat behoudt deze moleculaire en fenotypische kenmerken en maakt tegelijkertijd op fluorescentie gebaseerde toepassingen mogelijk.

De stabiele integratie van de eGFP-reporter maakt realtime visualisatie van A375-eGFP-cellen mogelijk in zowel in vitro- als in vivo-systemen. Fluorescentiebeeldvorming vergemakkelijkt het monitoren van celproliferatie, migratie, invasie en morfologische veranderingen, evenals het volgen van tumorgroei en metastatische verspreiding in xenotransplantaatmodellen. De verbeterde GFP-variant biedt een verbeterde helderheid en stabiliteit in vergelijking met eerdere GFP-constructen, waardoor gevoelige detectie mogelijk is, zelfs bij lage celgetallen. Dit maakt A375-eGFP bijzonder nuttig in co-cultuurexperimenten, high-content beeldvormingsplatforms en studies die een nauwkeurige ruimtelijke resolutie van het gedrag van tumorcellen vereisen.

A375-eGFP behoudt het agressieve en proliferatieve fenotype van de oorspronkelijke melanoomlijn, inclusief de respons op MAPK-route-remmers en het vermogen tot invasie en metastase in experimentele modellen. De toevoeging van eGFP vergroot het nut ervan voor het screenen van geneesmiddelen, beeldvorming van levende cellen en studies naar de interactie tussen tumor en micro-omgeving. Net als bij andere met reporter gemerkte cellijnen wordt aanbevolen om de stabiliteit en consistentie van de fluorescentie over verschillende passages te valideren voor specifieke experimentele toepassingen.

Organism Mens

Tissue Been, huid

Disease Amelanotisch melanoom

Kenmerken

Age 54 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Aanhangend

A375-GFP | 305665

Regelgevende gegevens

Citation	A375-eGFP (Cytion-catalogusnummer 305665)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_QZ67
GMO Status	GMO-S1: Deze menselijke A375-melanoomcellijn bevat een construct voor verhoogde GFP-expressie dat via een lentivirale vector wordt overgebracht voor fluorescentievisualisatie. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile	Mutatie: BRAF, enkelvoudig, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygoot (afkomstig van de oorspronkelijke cellijn).Mutatie, CDKN2A, eenvoudig, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygoot (afkomstig van de oorspronkelijke cellijn).Mutatie, CDKN2A, eenvoudig, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygoot (van oudercellijn).Mutatie, TERT, Eenvoudig, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Niet gespecificeerd, Opmerking=In promotor (afkomstig van oudercellijn).
---------------------------	--

Omgaan met

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.
----------------------	---

A375-GFP | 305665

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij $200 \times g$ en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opslag bij $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA