

A375-GFP | 305665

Informacje ogólne

Description

A375-eGFP to zmodyfikowana genetycznie odmiana ludzkiej linii komórkowej czerniaka złośliwego A375, stabilnie wyrażająca białko wzmocnionej zielonej fluorescencji (eGFP). macierzysta linia komórkowa A375 pochodzi z guza czerniaka skóry u dorosłego pacjenta i jest szeroko stosowana jako model czerniaka skórno, szczególnie w badaniach dotyczących onkogennej sygnalizacji BRAF, ponieważ zawiera mutację BRAF V600E. Mutacja ta prowadzi do konstytutywnej aktywacji szlaku MAPK/ERK, stymulując proliferację i przeżywalność, co sprawia, że komórki A375 są bardzo przydatne w badaniach nad terapiami celowanymi, takimi jak inhibitory BRAF i MEK. Pochodna wyrażająca eGFP zachowuje te cechy molekularne i fenotypowe, umożliwiając jednocześnie zastosowania oparte na fluorescencji.

Stabilne włączenie reporteru eGFP pozwala na wizualizację komórek A375-eGFP w czasie rzeczywistym zarówno w systemach in vitro, jak i in vivo. Obrazowanie fluorescencyjne ułatwia monitorowanie proliferacji, migracji, inwazji i zmian morfologicznych komórek, a także śledzenie wzrostu guza i rozprzestrzeniania się przerzutów w modelach ksenotransplantacyjnych. Wzmocniony wariant GFP zapewnia lepszą jasność i stabilność w porównaniu z wcześniejszymi konstrukcjami GFP, umożliwiając czułe wykrywanie nawet przy małej liczbie komórek. To sprawia, że A375-eGFP jest szczególnie przydatny w eksperymentach z hodowlami mieszanymi, platformach obrazowania o wysokiej zawartości danych oraz badaniach wymagających precyzyjnej rozdzielczości przestrzennej zachowania komórek nowotworowych.

A375-eGFP zachowuje agresywny i proliferacyjny fenotyp macierzystej linii czerniaka, w tym reaktywność na inhibitory szlaku MAPK oraz zdolność do inwazji i tworzenia przerzutów w modelach eksperymentalnych. Dodanie eGFP rozszerza jego zastosowanie w badaniach przesiewowych leków, obrazowaniu żywych komórek oraz badaniach interakcji między nowotworem a mikrośrodowiskiem. Podobnie jak w przypadku innych linii komórkowych znakowanych reporterem, w konkretnych zastosowaniach eksperymentalnych zaleca się weryfikację stabilności fluorescencji i spójności w kolejnych pasażach.

Organism Człowiek

Tissue Noga, skóra

Disease Czerniak amelanotyczny

Charakterystyka

Age 54 lata

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Growth properties Adherent

A375-GFP | 305665**Dane regulacyjne****Citation** A375-eGFP (numer katalogowy Cytion 305665)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_QZ67**GMO Status** GMO-S1: Ta ludzka linia komórkowa czerniaka A375 zawiera konstrukcję genową zapewniającą zwiększoną ekspresję GFP, wprowadzoną za pomocą wektora lentiwirusowego w celu wizualizacji fluorescencyjnej. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.**Dane biomolekularne****Mutational profile** Mutacja: BRAF, mutacja punktowa, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygotyczna (pochodząca z linii komórkowej rodzica). Mutacja, CDKN2A, prosta, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej). Mutacja, CDKN2A, prosta, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej). Mutacja, TERT, prosta, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nieokreślona, uwaga = w promotorze (z macierzystej linii komórkowej).**Obsługa****Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

A375-GFP | 305665

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA