

## A375-GFP | 305665

## Všeobecné informácie

## Description

A375-eGFP je geneticky modifikovaná varianta ľudskej bunky z línie A375 pochádzajúcej z malígneho melanómu, ktorá stabilne exprimuje proteín eGFP (enhanced green fluorescent protein). Rodičovská bunková línia A375 pochádza z nádoru kožného melanómu u dospelého pacienta a je široko používaná ako model kožného melanómu, najmä pre štúdie týkajúce sa onkogénnej BRAF signalizácie, keďže obsahuje mutáciu BRAF V600E. Táto mutácia vedie k konštitutívnej aktivácii dráhy MAPK/ERK, čo podporuje proliferáciu a prežívanie buniek a robí bunky A375 vysoko relevantnými pre skúmanie cielených terapií, ako sú inhibítory BRAF a MEK. Derivát exprimujúci eGFP si zachováva tieto molekulárne a fenotypové charakteristiky a zároveň umožňuje aplikácie založené na fluorescencii.

Stabilná inkorporácia eGFP reportéra umožňuje vizualizáciu buniek A375-eGFP v reálnom čase v systémoch in vitro aj in vivo. Fluorescenčné zobrazovanie uľahčuje monitorovanie proliferácie, migrácie, invázie a morfológických zmien buniek, ako aj sledovanie rastu nádoru a metastatického šírenia v xenotransplantačných modeloch. Vylepšená varianta GFP poskytuje v porovnaní s predchádzajúcimi konštruktmi GFP vyššiu jasnosť a stabilitu, čo umožňuje citlivú detekciu aj pri nízkych počtoch buniek. Vďaka tomu je A375-eGFP obzvlášť užitočný v experimentoch s ko-kultúrou, platformách zobrazovania s vysokým obsahom a štúdiách vyžadujúcich presné priestorové rozlíšenie správania nádorových buniek.

A375-eGFP si zachováva agresívny a proliferatívny fenotyp rodičovskej línie melanómu, vrátane citlivosti na inhibítory MAPK dráhy a schopnosti invázie a metastázovania v experimentálnych modeloch. Pridanie eGFP rozširuje jeho využiteľnosť pri skríningu liekov, zobrazovaní živých buniek a štúdiách interakcie nádoru s mikroprostredím. Rovnako ako v prípade iných bunkových línií označených reportérmi sa pre špecifické experimentálne aplikácie odporúča validácia stability a konzistencie fluorescencie v priebehu pasáží.

**Organism** Ľudské

**Tissue** Noha, koža

**Disease** Amelanotický melanóm

## Charakteristika

**Age** 54 rokov

**Gender** Ženy

**Ethnicity** Kaukazský

**Growth properties** Adherent

## Regulačné údaje

**A375-GFP | 305665****Citation** A375-eGFP (katalógové číslo Cytion 305665)**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_QZ67**GMO Status** GMO-S1: Táto ľudská melanómová bunka A375 obsahuje konštrukt so zvýšenou expresiou GFP, ktorý je do bunky zavedený prostredníctvom lentivírusového vektora na účely fluorescenčnej vizualizácie. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: BRAF, jednoduchá, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygotná (z rodičovskej bunky). Mutácia, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygotná (z rodičovskej bunky). Mutácia, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygotná (z rodičovskej bunky). Mutácia, TERT, jednoduchá, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nešpecifikovaná, poznámka = v promotore (z rodičovskej bunky).**Spracovanie****Freeze medium** Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletne rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

**A375-GFP | 305665**

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage  
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**