

A375-GFP | 305665

Splošne informacije

Description

A375-eGFP je gensko spremenjena različica človeške celične linije malignega melanoma A375, ki stabilno izraža okrepljen zeleni fluorescenčni protein (eGFP). Izvorna celična linija A375 izhaja iz kožnega melanomskega tumorja pri odraslem pacientu in se pogosto uporablja kot model za kožni melanom, zlasti za študije, ki vključujejo onkogeno signalizacijo BRAF, saj vsebuje mutacijo BRAF V600E. Ta mutacija vodi do konstitutivne aktivacije poti MAPK/ERK, ki spodbuja proliferacijo in preživetje ter zaradi česar so celice A375 zelo pomembne za raziskovanje ciljnih terapij, kot so zaviralci BRAF in MEK. Derivat, ki izraža eGFP, ohranja te molekularne in fenotipne značilnosti, hkrati pa omogoča uporabo na podlagi fluorescenčnega slikanja.

Stabilna vključitev eGFP-reporterja omogoča vizualizacijo celic A375-eGFP v realnem času tako v in vitro kot v in vivo sistemih. Fluorescenčno slikanje olajšuje spremljanje celične proliferacije, migracije, invazije in morfoloških sprememb ter sledenje rasti tumorja in metastaziranja v modelih ksenotransplantatov. Izboljšana različica GFP zagotavlja večjo svetlost in stabilnost v primerjavi s prejšnjimi konstrukti GFP, kar omogoča občutljivo detekcijo tudi pri majhnem številu celic. Zaradi tega je A375-eGFP še posebej uporaben v poskusih s so-kulturo, platformah za visoko-vsebinsko slikanje in študijah, ki zahtevajo natančno prostorsko ločljivost vedenja tumorskih celic.

A375-eGFP ohranja agresiven in proliferativni fenotip starševske linije melanoma, vključno z odzivnostjo na zaviralce poti MAPK ter zmožnostjo invazije in metastaziranja v eksperimentalnih modelih. Dodatek eGFP razširja njegovo uporabnost za presejanje zdravil, slikanje živih celic in študije interakcij med tumorjem in mikrookoljem. Tako kot pri drugih celičnih linijah, označenih z reporterjem, se za določene eksperimentalne aplikacije priporoča validacija stabilnosti in konsistentnosti fluorescen

Organism

Človek

Tissue

Noga, koža

Disease

Amelanotični melanom

Značilnosti

Age

54 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

A375-GFP | 305665

Citation A375-eGFP (kataloška številka Cytion 305665)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_QZ67

GMO Status GMO-S1: Ta človeška linija melanoma A375 vsebuje konstrukt za povečano izražanje GFP, ki ga prenaša lentiviralni vektor za fluorescenčno vizualizacijo. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Mutational profile Mutacija: BRAF, enostavna, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigotna (iz izvorne celične linije). Mutacija, CDKN2A, preprosta, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozigotna (iz starševske celične linije). Mutacija, CDKN2A, preprosta, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozigotna (iz starševske celične linije). Mutacija, TERT, preprosta, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nedoločena, opomba = v promotorju (iz starševske celične linije).

Ravnanje s spletno stranjo

Freeze medium Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

A375-GFP | 305665

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Shranjevanje pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA