Product sheet

A375-GFP | 305665

Thông tin chung

Description	A375-GFP là một biến thể được biến đổi gen từ dòng tế bào u hắc tố ác tính ở người A375, biểu hiện ổn định protein huỳnh quang xanh tăng cường (eGFP). Dòng tế bào A375 gốc được phân lập từ khối u u hắc tố da của một bệnh nhân người lớn và được sử dụng rộng rãi làm mô hình cho u hắc tố da, đặc biệt là trong các nghiên cứu liên quan đến tín hiệu BRAF gây ung thư, do nó mang đột biến BRAF V600E. Đột biến này dẫn đến sự kích hoạt liên tục của con đường tín hiệu MAPK/ERK, thúc đẩy sự tăng sinh và sự sống còn của tế bào, khiến các tế bào A375 trở nên rất phù hợp để nghiên cứu các liệu pháp nhắm mục tiêu như chất ức chế BRAF và MEK. Biến thể biểu hiện GFP này vẫn giữ nguyên các đặc tính phân tử và hình thái học đó đồng thời cho phép thực hiện các ứng dụng dựa trên huỳnh quang. Việc tích hợp ổn định báo cáo eGFP cho phép quan sát theo thời gian thực các tế bào A375-GFP trong cả hệ thống in vitro và in vivo. Hình ảnh huỳnh quang hỗ trợ theo dõi sự tăng sinh, di chuyển, xâm lấn và thay đổi hình thái của tế bào, cũng như theo dõi sự phát triển khối u và sự lan rộng di căn trong các mô hình cấy ghép dị chủng. Biến thể GFP được cải tiến mang lại độ sáng và độ ổn định cao hơn so với các cấu trúc GFP trước đây, cho phép phát hiện nhạy cảm ngay cả khi số lượng tế bào thấp. Điều này khiến A375-GFP đặc biệt hữu ích trong các thí nghiệm đồng nuôi cấy, nền tảng hình ảnh nội dung cao và các nghiên cứu yêu cầu độ phân giải không gian chính xác về hành vi của tế bào khối u. A375-GFP duy trì kiểu hình xâm lấn và tăng sinh của dòng tế bào u hắc tố gốc, bao gồm khả năng đáp ứng với các chất ức chế con đường MAPK cũng như khả năng xâm lấn và di căn trong các mô hình thí nghiệm. Việc bổ sung GFP mở rộng tính ứng dụng của dòng tế bào này cho sàng lọc thuốc, hình ảnh tế bào sống và các nghiên cứu về tương tác giữa khối u và vi môi trường. Giống như các dòng tế bào được gắn báo hiệu khác, việc xác nhận độ ổn định và tính nhất quán của huỳnh quang qua các lần nhân giống được khuyến nghị cho các ứng dụng thí nghiệm cụ thể. **Sửa đổi di truyền:** Được sửa đổi ổn định bằng phương pháp truyền lentivirus không có khả năng nhân lên để biểu hiện protein báo hiệu huỳnh quang xanh ZsGreen1; được duy trì dưới dạng quần thể đa dòng dưới sự chọn lọc bằng puromycin (1–5 µg/mL). Mức độ an toàn S1/BSL-1.
Organism	Con người
Tissue	Chân, da
Disease	Ung thư hắc tố không có sắc tố

Đặc điểm

Age	54 năm
Gender	Nữ
Ethnicity	Người da trắng

A375-GFP | 305665

Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	A375-GFP (mã sản phẩm Cytion 305665)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_QZ67
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào này chứa gen báo cáo protein huỳnh quang xanh ZsGreen1 được tích hợp ổn định thông qua quá trình truyền gen bằng lentivirus không có khả năng nhân lên. Dân số tế bào đa dòng thu được được duy trì dưới điều kiện chọn lọc bằng puromycin (1–5 µg/mL). Yêu cầu mức độ an toàn S1. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác nhau ở các quốc gia khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Antigen expression	ZsGreen1 (protein huỳnh quang màu xanh lá cây)
Mutational profile	Đột biến: BRAF, Đơn giản, p.Val600Glu (c.1799T>A), Đồng hợp tử (từ dòng tế bào gốc).Đột biến, CDKN2A, Đơn giản, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), Đồng hợp tử (từ dòng tế bào gốc).Đột biến, CDKN2A, Đơn giản, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Đồng hợp tử (từ dòng tế bào mẹ).Đột biến, TERT, Đơn giản, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Không xác định, Ghi chú=Trong vùng khởi động (từ dòng tế bào gốc).

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase

A375-GFP | 305665

Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Seeding density	1 đến 3 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
Freeze medium	Với tư cách là môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sót sau khi rã đông.
Thawing and Culturing Cells	1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển. 2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức. 3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ. 4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở. 5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ. 6. Ly tâm hỗn hợp ở 200 x g trong 5 phút, cẩn thận loại bỏ dịch trên chứa môi trường đông lạnh. 7. Thực hiện theo quy trình mô tả trong phần Phục hồi sau khi rã đông
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO_2}$, môi trường ẩm.

Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử