A375-GFP

305665

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

A375-GFP е генетично модифициран вариант на клетъчната линия A375 на човешки злокачествен меланом, който стабилно експресира усилван зелен флуоресцентен протеин (eGFP). Първоначалната клетъчна линия A375 е получена от тумор на кожен меланом при възрастен пациент и се използва широко като модел за кожен меланом, особено за изследвания, свързани с онкогенния BRAF сигналинг, тъй като притежава мутацията BRAF V600E. Тази мутация води до конститутивна активация на MAPK/ERK сигналния път, стимулира пролиферацията и оцеляването и прави клетките A375 изключително подходящи за изследване на целеви терапии, като например инхибитори на BRAF и MEK. Дериватът, експресиращ GFP, запазва тези молекулярни и фенотипни характеристики, като същевременно позволява приложения, базирани на флуоресценция.
Стабилното вграждане на репортера eGFP позволява визуализация в реално време на клетките A375-GFP както в системи in vitro, така и в системи in vivo. Флуоресцентната визуализация улеснява наблюдението на клетъчната пролиферация, миграция, инвазия и морфологични промени, както и проследяването на туморния растеж и метастатичното разпространение в модели с ксенографти. Подобреният вариант на GFP осигурява по-добра яркост и стабилност в сравнение с по-ранните GFP конструкции, което позволява чувствително откриване дори при малък брой клетки. Това прави A375-GFP особено полезен при експерименти с кокултури, платформи за изображения с високо съдържание и изследвания, изискващи прецизна пространствена резолюция на поведението на туморните клетки.
A375-GFP запазва агресивния и пролиферативен фенотип на родителската линия на меланом, включително отзивчивостта към инхибитори на MAPK пътя и способността за инвазия и метастазиране в експериментални модели. Добавянето на GFP разширява приложимостта ѝ за скрининг на лекарства, визуализация на живи клетки и изследвания на взаимодействието между тумора и микросредата. Както и при други клетъчни линии, маркирани с репортер, за конкретни експериментални приложения се препоръчва валидиране на стабилността и постоянството на флуоресценцията през различните пасажи.
Генетична модификация: Стабилно модифицирана чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция за експресия на репортера зелен флуоресцентен протеин ZsGreen1; поддържана като поликлонална популация при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Ниво на биологична безопасност S1/BSL-1.

Тъкан	Крак, кожа
Заболяване	Амеланотичен меланом

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Женски
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

GMO-S1: This cell line contains a stably integrated ZsGreen1 green fluorescent protein reporter introduced via replication-incompetent lentiviral transduction. The resulting polyclonal cell population was maintained under puromycin selection (1–5 µg/mL). S1 containment is required. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Ниво на биологична безопасност	1

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

A375-GFP (каталожен номер на Cytion 305665)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_QZ67

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Експресия на антигена

ZsGreen1 (зелен флуоресцентен протеин)

Мутационен профил

Мутация: BRAF, проста, p.Val600Glu (c.1799T>A), хомозиготна (от родителската клетъчна линия).Мутация, CDKN2A, проста, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), хомозиготна (от родителска клетъчна линия).Мутация, CDKN2A, проста, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), хомозиготна (от родителска клетъчна линия).Мутация, TERT, проста, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), неуточнена, бележка = в промотора (от родителска клетъчна линия).

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS

Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Плътност на засяването	1 до 3 x 10^4 клетки/cm^2
Обновяване на течността	2 до 3 пъти седмично

Размразяване и култивиране

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 200 x g for 5 minutes, carefully discard the supernatant containing freezing medium.
Follow the procedure described under Post-Thaw Recovery

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	54 години
Етническа принадлежност	Кавказки

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Необходимо е споразумение за прехвърляне на материали	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB