A375-GFP

305665

OBECNÉ INFORMACE

Popis

A375-GFP je geneticky modifikovaná varianta lidské buněčné linie A375 pocházející z maligního melanomu, která stabilně exprimuje zesílený zelený fluorescenční protein (eGFP). Původní buněčná linie A375 pochází z kožního melanomu dospělého pacienta a je široce využívána jako model kožního melanomu, zejména pro studie týkající se onkogenní BRAF signalizace, jelikož nese mutaci BRAF V600E. Tato mutace vede ke konstitutivní aktivaci signální dráhy MAPK/ERK, která podporuje proliferaci a přežití buněk, díky čemuž jsou buňky A375 vysoce relevantní pro výzkum cílených terapií, jako jsou inhibitory BRAF a MEK. Derivát exprimující GFP si zachovává tyto molekulární a fenotypové vlastnosti a zároveň umožňuje aplikace založené na fluorescenci.
Stabilní začlenění reportéru eGFP umožňuje vizualizaci buněk A375-GFP v reálném čase jak v systémech in vitro, tak in vivo. Fluorescenční zobrazování usnadňuje sledování buněčné proliferace, migrace, invaze a morfologických změn, stejně jako sledování růstu nádoru a šíření metastáz v modelech xenotransplantátů. Vylepšená varianta GFP poskytuje vyšší jas a stabilitu ve srovnání s dřívějšími GFP konstrukty, což umožňuje citlivou detekci i při malém počtu buněk. Díky tomu je A375-GFP obzvláště užitečný v experimentech s kokulturami, na platformách pro high-content imaging a ve studiích vyžadujících přesné prostorové rozlišení chování nádorových buněk.
A375-GFP si zachovává agresivní a proliferativní fenotyp mateřské melanomové linie, včetně citlivosti na inhibitory signální dráhy MAPK a schopnosti invaze a metastázování v experimentálních modelech. Přidání GFP rozšiřuje její využitelnost pro screening léčiv, zobrazování živých buněk a studie interakcí mezi nádorem a mikroprostředím. Stejně jako u jiných buněčných linií značených reportérem se pro konkrétní experimentální aplikace doporučuje ověření stability a konzistence fluorescence v průběhu pasáží.
Genetická modifikace: Stabilně modifikováno lentivirovou transdukcí neschopnou replikace k expresi reportéru zeleného fluorescenčního proteinu ZsGreen1; udržováno jako polyklonální populace pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.

Tkáň	Noha, kůže
Nemoc	Amelanotický melanom

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Žena
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

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.

Úroveň biologické bezpečnosti	1

IDENTIFIKÁTORY

Citace

A375-GFP (katalogové číslo Cytion 305665)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

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

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Exprese antigenu

ZsGreen1 (zelený fluorescenční protein)

Mutační profil

Mutace: BRAF, jednoduchá, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygotní (z rodičovské buněčné linie).Mutace, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygotní (z rodičovské buněčné linie).Mutace, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygotní (z mateřské buněčné linie).Mutace, TERT, jednoduchá, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nespecifikovaná, poznámka = v promotoru (z mateřské buněčné linie).

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

Disociační činidlo	Accutase

Subkultivace

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Hustota výsevu	1 až 3 x 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2 až 3krát týdně

Rozmrazování a kultivace

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

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	54 let
Etnická příslušnost	Kavkazský

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Je nutná smlouva o převodu materiálu	Yes