A375-GFP

305665

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

A375-GFP er en genetisk modificeret variant af den humane maligne melanomcellelinje A375, der stabilt udtrykker forstærket grønt fluorescerende protein (eGFP). Den oprindelige A375-cellelinje stammer fra en hudmelanomtumor hos en voksen patient og anvendes i vid udstrækning som model for kutan melanom, især til undersøgelser af onkogen BRAF-signalering, da den bærer BRAF V600E-mutationen. Denne mutation fører til konstant aktivering af MAPK/ERK-signalvejen, hvilket fremmer celledeling og overlevelse og gør A375-celler særdeles relevante til undersøgelse af målrettede behandlinger, såsom BRAF- og MEK-hæmmere. Den GFP-udtrykkende variant bevarer disse molekylære og fænotypiske egenskaber, samtidig med at den muliggør fluorescensbaserede anvendelser.
Den stabile inkorporering af eGFP-reporteren muliggør visualisering i realtid af A375-GFP-celler i både in vitro- og in vivo-systemer. Fluorescensbilleddannelse letter overvågningen af celleproliferation, migration, invasion og morfologiske ændringer samt sporing af tumorvækst og metastatisk spredning i xenotransplantatmodeller. Den forbedrede GFP-variant giver øget lysstyrke og stabilitet sammenlignet med tidligere GFP-konstruktioner, hvilket muliggør følsom detektion selv ved lave celletal. Dette gør A375-GFP særligt anvendelig i co-kultur-eksperimenter, high-content-billeddannelsesplatforme og undersøgelser, der kræver præcis rumlig opløsning af tumorcellernes adfærd.
A375-GFP bevarer den aggressive og proliferative fænotype fra den oprindelige melanomstamme, herunder reaktionsdygtighed over for MAPK-signalvejsinhibitorer samt evnen til invasion og metastase i eksperimentelle modeller. Tilsætningen af GFP udvider dens anvendelighed til lægemiddelscreening, billeddannelse af levende celler og undersøgelser af interaktionen mellem tumor og mikromiljø. Som med andre reportermærkede cellelinjer anbefales det at validere fluorescensstabiliteten og konsistensen på tværs af passager til specifikke eksperimentelle anvendelser.
Genetisk modifikation: Stabilt modificeret ved replikationsinkompetent lentiviral transduktion til at udtrykke ZsGreen1-reporteren (grønt fluorescerende protein); opbevares som en polyklonal population under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-indeslutning.

Væv	Ben, hud
Sygdom	Amelanotisk melanom

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Kvinde
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	1

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

A375-GFP (Cytion-katalognummer 305665)

NCBI-skattenummer	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

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Antigenudtryk

ZsGreen1 (grønt fluorescerende protein)

Mutationsprofil

Mutation: BRAF, enkel, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygot (fra forældrecellelinje).Mutation, CDKN2A, enkel, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygot (fra forældrecellelinje).Mutation, CDKN2A, enkel, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygot (fra forældrecellelinje).Mutation, TERT, Enkel, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Uspecificeret, Bemærkning=I promotor (fra forældrecellelinje).

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Såtæthed	1 til 3 x 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	54 år
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytіon står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der kræves en aftale om overførsel af materiale	Yes