A375-GFP

305665

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

A375-GFP ist eine gentechnisch veränderte Variante der menschlichen malignen Melanom-Zelllinie A375, die stabil das Enhanced Green Fluorescent Protein (eGFP) exprimiert. Die ursprüngliche A375-Zelllinie stammt von einem Hautmelanom eines erwachsenen Patienten und wird häufig als Modell für das kutane Melanom verwendet, insbesondere für Untersuchungen zur onkogenen BRAF-Signalübertragung, da sie die BRAF-V600E-Mutation aufweist. Diese Mutation führt zu einer konstitutiven Aktivierung des MAPK/ERK-Signalwegs, was die Proliferation und das Überleben fördert und A375-Zellen für die Untersuchung zielgerichteter Therapien wie BRAF- und MEK-Inhibitoren äußerst relevant macht. Das GFP-exprimierende Derivat behält diese molekularen und phänotypischen Eigenschaften bei und ermöglicht gleichzeitig fluoreszenzbasierte Anwendungen.
Die stabile Einbindung des eGFP-Reporters ermöglicht die Echtzeit-Visualisierung von A375-GFP-Zellen sowohl in In-vitro- als auch in In-vivo-Systemen. Die Fluoreszenzbildgebung erleichtert die Überwachung von Zellproliferation, Migration, Invasion und morphologischen Veränderungen sowie die Verfolgung des Tumorwachstums und der metastatischen Ausbreitung in Xenotransplantatmodellen. Die verbesserte GFP-Variante bietet im Vergleich zu früheren GFP-Konstrukten eine höhere Leuchtkraft und Stabilität und ermöglicht so einen sensitiven Nachweis selbst bei geringen Zellzahlen. Dies macht A375-GFP besonders nützlich für Kokultur-Experimente, High-Content-Imaging-Plattformen und Studien, die eine präzise räumliche Auflösung des Tumorzellverhaltens erfordern.
A375-GFP behält den aggressiven und proliferativen Phänotyp der ursprünglichen Melanomlinie bei, einschließlich der Reaktionsfähigkeit auf Inhibitoren des MAPK-Signalwegs und der Fähigkeit zur Invasion und Metastasierung in experimentellen Modellen. Die Einbringung von GFP erweitert den Einsatzbereich für das Wirkstoffscreening, die Live-Cell-Bildgebung und Untersuchungen zur Interaktion zwischen Tumor und Mikroumgebung. Wie bei anderen mit Reportern markierten Zelllinien wird für spezifische experimentelle Anwendungen eine Validierung der Fluoreszenzstabilität und -konsistenz über mehrere Passagen hinweg empfohlen.
Genetische Modifikation: Stabil modifiziert durch replikationsinkompetente lentivirale Transduktion zur Expression des grün fluoreszierenden Proteins ZsGreen1; als polyklonale Population unter Puromycin-Selektion (1–5 µg/mL) erhalten. Sicherheitsstufe S1/BSL-1.

Gewebe	Bein, Haut
Krankheit	Amelanotisches Melanom

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Weiblich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-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.

Biologische Sicherheitsstufe	1

BEZEICHNER

Quellenangabe

A375-GFP (Cytion-Katalognummer 305665)

NCBI-Steuer-ID	9606

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

Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Antigenexpression

ZsGreen1 (grün fluoreszierendes Protein)

Mutationsprofil

Mutation: BRAF, einfach, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygot (aus der Elternzelllinie).Mutation, CDKN2A, einfach, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygot (aus der Elternzelllinie).Mutation, CDKN2A, einfach, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygot (aus der Elternzelllinie).Mutation, TERT, einfach, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nicht spezifiziert, Anmerkung=Im Promotor (aus der Elternzelllinie).

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissoziationsreagenz	Accutase

Subkultivierung

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Aussaatdichte	1 bis 3 x 10^4 Zellen/cm^2
Flüssigkeitswechsel	2 bis 3 Mal pro Woche

Auftauen und Kultivierung

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

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	54 Jahre
Ethnische Zugehörigkeit	Kaukasisch

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Materialübertragungsvereinbarung erforderlich	Yes