A375-GFP

305665

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

A375-GFP on inimese pahaloomulise melanoomi rakuliini A375 geneetiliselt muundatud variant, mis ekspresseerib stabiilselt tugevdatud rohelist fluorestsentsvalku (eGFP). Algrakuliin A375 on saadud täiskasvanud patsiendi nahamelanoomi kasvajast ja seda kasutatakse laialdaselt nahamelanoomi mudelina, eriti uuringutes, mis käsitlevad onkogeenset BRAF-signaalimist, kuna see sisaldab BRAF V600E mutatsiooni. See mutatsioon põhjustab MAPK/ERK signaalitee konstitutiivset aktiveerumist, soodustades proliferatsiooni ja ellujäämist ning muutes A375-rakud väga sobivaks sihtterapiate, nagu BRAF- ja MEK-inhibiitorite uurimiseks. GFP-d ekspresseeriv derivaat säilitab need molekulaarsed ja fenotüübilised omadused, võimaldades samal ajal fluorestsentsipõhiseid rakendusi.
eGFP-reporteri stabiilne sisseviimine võimaldab A375-GFP-rakkude reaalajas visualiseerimist nii in vitro kui ka in vivo süsteemides. Fluorestsentspildistamine hõlbustab rakkude proliferatsiooni, migratsiooni, invasiivsuse ja morfoloogiliste muutuste jälgimist, samuti kasvaja kasvu ja metastaaside leviku jälgimist ksenotransplantaadi mudelites. Täiustatud GFP-variant pakub varasemate GFP-konstruktsioonidega võrreldes paremat heledust ja stabiilsust, võimaldades tundlikku tuvastamist isegi väikese rakukoguse korral. See muudab A375-GFP eriti kasulikuks ko-kultuuri katsetes, suure infosisaldusega pildistamisplatvormidel ning uuringutes, mis nõuavad kasvajarakkude käitumise täpset ruumilist eraldusvõimet.
A375-GFP säilitab emaliini agressiivse ja proliferatiivse fenotüübi, sealhulgas reageerimisvõime MAPK-signaalitee inhibiitoritele ning invasiivsuse ja metastaaside tekkimise võime eksperimentaalsetes mudelites. GFP lisamine laiendab selle kasutusvõimalusi ravimite sõelumisel, elusrakkude pildistamisel ning kasvaja ja mikrokeskkonda vahelise interaktsiooni uuringutes. Nagu teistegi reportervalkudega märgistatud rakuliinide puhul, soovitatakse konkreetsete eksperimentaalsete rakenduste jaoks kontrollida fluorestsentsi stabiilsust ja järjepidevust erinevate passaažide vahel.
Geneetiline modifikatsioon: stabiilselt modifitseeritud replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni abil, et ekspresseerida rohelist fluorestsentsvalku ZsGreen1; säilitatakse polükloonilise populatsioonina puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 ohutustase.

Kude	Jalg, nahk
Haigus	Amelanootiline melanoom

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Naine
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

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.

Bioloogilise ohutuse tase	1

TUNNUSED

Viide

A375-GFP (Cytioni kataloginumber 305665)

NCBI maksukood	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

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Antigeeni ekspressioon

ZsGreen1 (roheline fluorestsentsvalk)

Mutatsiooniprofiil

Mutatsioon: BRAF, lihtne, p.Val600Glu (c.1799T>A), homosügootne (pärineb vanemrakuliinist).Mutatsioon, CDKN2A, lihtne, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homosügootne (pärineb vanemrakuliinist).Mutatsioon, CDKN2A, lihtne, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homosügootne (pärineb vanemrakuliinist).Mutatsioon, TERT, lihtne, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), täpsustamata, märkus = promootoris (pärineb vanemrakuliinist).

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Külvitihedus	1 kuni 3 x 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	2 kuni 3 korda nädalas

Sulatamine ja kasvatamine

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

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	54 aastat
Etniline kuuluvus	Kaukaasia

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""'x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes