A375-GFP

305665

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

A375-GFP on ihmisen pahanlaatuisen melanooman solulinjan A375 geneettisesti muunnettu variantti, joka ilmentää vakaasti tehostettua vihreää fluoresoivaa proteiinia (eGFP). Alkuperäinen A375-solulinja on peräisin aikuispotilaan ihomelanoomakasvaimesta, ja sitä käytetään laajalti ihomelanooman mallina, erityisesti tutkimuksissa, jotka liittyvät onkogeeniseen BRAF-signalointiin, sillä se kantaa BRAF V600E -mutaatiota. Tämä mutaatio johtaa MAPK/ERK-signalointireitin jatkuvaan aktivoitumiseen, mikä edistää solujen lisääntymistä ja selviytymistä ja tekee A375-soluista erittäin merkityksellisiä kohdennettujen hoitojen, kuten BRAF- ja MEK-estäjien, tutkimuksessa. GFP:tä ilmentävä johdannainen säilyttää nämä molekyyliset ja fenotyyppiset ominaisuudet samalla kun se mahdollistaa fluoresenssipohjaiset sovellukset. eGFP-raportoijan vakaa sisällyttäminen mahdollistaa A375-GFP-solujen reaaliaikaisen visualisoinnin sekä in vitro- että in vivo -järjestelmissä. Fluoresenssikuvantaminen helpottaa solujen proliferaation, migraation, invaasion ja morfologisten muutosten seurantaa sekä kasvaimen kasvun ja metastaattisen leviämisen seurantaa ksenotransplantaattimalleissa. Tehostettu GFP-variantti tarjoaa paremman kirkkauden ja vakauden verrattuna aikaisempiin GFP-konstruktioihin, mikä mahdollistaa herkän havaitsemisen jopa pienillä solumäärillä. Tämä tekee A375-GFP:stä erityisen hyödyllisen yhteisviljelykokeissa, korkean sisällön kuvantamisalustoilla sekä tutkimuksissa, jotka vaativat tarkkaa spatiaalista resoluutiota kasvainsolujen käyttäytymisen tarkastelussa.
A375-GFP säilyttää emomelanoomalinjan aggressiivisen ja proliferaatiivisen fenotyypin, mukaan lukien herkkyyden MAPK-reitin estäjille sekä invaasio- ja metastaasikyvyn kokeellisissa malleissa. GFP:n lisääminen laajentaa sen käyttökelpoisuutta lääkeaineiden seulonnassa, elävien solujen kuvantamisessa sekä kasvaimen ja mikroympäristön välisten vuorovaikutusten tutkimuksissa. Kuten muidenkin raportointigeenillä merkittyjen solulinjojen kohdalla, fluoresenssin vakauden ja yhdenmukaisuuden validointi soluviljelmien siirtojen välillä on suositeltavaa tiettyjä kokeellisia sovelluksia varten.
Geneettinen muuntelu: Stabiilisti muunnettu replikaatiokyvytön lentiviruksen välityksellä ilmentämään ZsGreen1-vihreää fluoresoivaa proteiinireportteria; ylläpidetään polyklonaalisena populaationa puromysiinivalinnassa (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-turvaluokitus.

Kudos	Jalka, iho
Sairaus	Amelanoottinen melanooma

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	1

TUNNISTEET

Lähdeviite

A375-GFP (Cytionin tuotenumero 305665)

NCBI-verotunnus	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

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Antigeenin ilmentyminen

ZsGreen1 (vihreä fluoresoiva proteiini)

Mutaatioprofiili

Mutaatio: BRAF, yksinkertainen, p.Val600Glu (c.1799T>A), homotsygoottinen (peräisin emosolulinjasta).Mutaatio, CDKN2A, yksinkertainen, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homotsygoottinen (peräisin vanhemman solulinjasta).Mutaatio, CDKN2A, yksinkertainen, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homotsygoottinen (peräisin emosolulinjasta).Mutaatio, TERT, yksinkertainen, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), määrittelemätön, huomautus = promootorissa (peräisin vanhemman solulinjasta).

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Kylvötiheys	1–3 x 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	54 vuotta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	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