A375-GFP

305665

GENERAL INFORMATION

Description

A375-GFP הוא וריאנט מהונדס גנטית של קו התאים A375 (eGFP). קו זה נגזר מגידול מלנומה בעור של מטופל בוגר, והוא נמצא בשימוש נרחב כמודל למלנומה עורית, במיוחד במחקרים העוסקים באיתות MAPK/ERK-מוטציה זו מובילה להפעלה קבועה של מסלול ה BRAF V600E. אונקוגני, שכן הוא נושא את המוטציה BRAF המניעה התרבות והישרדות, שומרת על מאפיינים מולקולריים GFP הנגזרת המבטאת BRAF ו-MEK. לרלוונטיים ביותר לחקר טיפולים ממוקדים כגון מעכבי A375 והופכת את תאי ופנוטיפיים אלה, תוך שהיא מאפשרת יישומים מבוססי פלואורסצנציה.

A375-GFP מאפשר הדמיה בזמן אמת של תאי eGFP הן במערכות in vitro והן במערכות in vivo. השילוב היציב של הרפורט הדמיה פלואורסצנטית מקלה על מעקב אחר התרבות תאים, נדידה, פלישה ושינויים מורפולוגיים, כמו גם על מעקב אחר צמיחת הגידול והתפשטות גרורתית במודלים של שתלים זרים. GFP, מספקת בהירות ויציבות משופרות בהשוואה למבנים קודמים של GFP הגרסה המשופרת של ומאפשרת זיהוי רגיש אפילו במספר תאים נמוך. דבר זה לשימושי במיוחד בניסויי תרבית משותפת, בפלטפורמות הדמיה בעלות תוכן גבוה ובמחקרים הדורשים רזולוציה מרחבית מדויקת של A375-GFP הופך את התנהגות תאי הגידול.

A375-GFP שומר על הפנוטיפ האגרסיבי והמתרבה של קו המלנומה ההורי, כולל תגובתיות למעכבי מסלול ה MAPK-ויכולת הפלישה והגרורות במודלים מרחיבה את השימושיות שלו לסינון תרופות, הדמיית תאים חיים ומחקרים על האינטראקציה בין הגידול לסביבה המיקרו-סביבתית. GFP-ניסיוניים. הוספת ה כמו בקווי תאים מסומנים אחרים, מומלץ לאמת את יציבות ועקביות הפלואורסצנציה לאורך מחזורי התרבות, בהתאם ליישומים ניסויים ספציפיים.

שינוי גנטי: שונה באופן יציב באמצעות העברה לנטרווירוס שאינו מסוגל לשכפל את עצמו, כדי לבטא את הרפורט של החלבון הזוהר הירוק ZsGreen1; נשמר כאוכלוסייה פוליקלונלית תחת סלקציה של פורומיצין (1–5 µg/mL). רמת אבטחה S1/BSL-1.

Tissue	רגל, עור
Disease	מלנומה ללא מלנוציטים

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

A375-GFP (מספר קטלוג Cytion 305665)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Antigen expression

ZsGreen1 (חלבון פלואורסצנטי ירוק)

Mutational profile

מוטציה: BRAF, פשוטה, p.Val600Glu (c.1799T>A), מוטציה (מקו תאים הורי).הומוזיגוטית, CDKN2A, פשוטה, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), מוטציה (מקו תאים הורי).הומוזיגוטית, CDKN2A, פשוטה, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), הומוזיגוטית (מקו תאים הורי), TERT, פשוטה, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), מוטציה בפרומוטור (מקו תאים הורי).הערה=, לא מוגדרת.

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, w: 4.5 g/L גלוקוז, w: 4 mM L-גלוטמין, w: 3.7 g/L NaHCO3, w: 1.0 mM נתרן פירובט (מספר קטלוגי Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, אווירה לחה.

Supplements

FBS הוסף לתווך 10%

Dissociation reagent	אקוטאז

Subculturing

T75, השתמש ב-3-5 מ"ל PBS, ועבור בקבוקי T25 ללא סידן ומגנזיום. עבור בקבוקי PBS-הסר את המדיום הישן מהתאים הדבוקים ושטוף אותם ב השאר את .T75 ו-2.5 מ"ל עבור בקבוקי T25 תוך שימוש ב-1-2 מ"ל עבור בקבוקי Accutase-השתמש ב-5-10 מ"ל. לאחר מכן, כסה את התאים לחלוטין ב התאים לדגירה בטמפרטורת החדר למשך 8-10 דקות כדי לנתק אותם. לאחר הדגירה, ערבב בעדינות את התאים עם 10 מ"ל של מדיום כדי להחזיר אותם למשך 3 דקות. השלך את הנוזל העליון, החזר את התאים לתמיסה במדיום טרי והעבר אותם לצלחות חדשות xgלתמיסה, ואז סובב בצנטריפוגה ב-300 שכבר מכילות מדיום טרי.

Seeding density	1 3 עד x 10^4 תאים/סמ"ר
Fluid renewal	2 עד 3 פעמים בשבוע

Thawing and culturing

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

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Freeze medium	כדי להבטיח חיוניות נאותה DMSO כמדיום לשימור בקירור, אנו משתמשים במדיום גידול מלא + 10% לאחר ההפשרה.

Storage conditions

לשימור לטווח ארוך, יש להניח את הבקבוקונים בחנקן נוזלי במצב של אדי בטמפרטורה של כ-150 עד 196 מעלות צלזיוס. אחסון בטמפרטורה של 80 מעלות צלזיוס מקובל רק כצעד ביניים קצר לפני העברה לחנקן נוזלי.

Shipping conditions

במהלך C-שורות תאים שהוקפאו נשלחות בקרח יבש באריזה מאושרת ומבודדת עם כמות מספקת של חומר קירור כדי לשמור על טמפרטורה של כ-78° ההובלה. עם קבלת המשלוח, יש לבדוק את המכל מיד ולהעביר את הבקבוקונים ללא דיחוי לאחסון מתאים.

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

DONOR

Donor age	שנים 54
Ethnicity	קווקזי

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

כאשר מתכננים לאחסן קריוביאל בחנקן נוזלי להפשרה עתידית, חובה להקפיד על אמצעי בטיחות מחמירים. יש להקפיד על שימוש בכפפות ובבגדים מגנים מתאימים, וכן על שימוש במסכת פנים או משקפי מגן בעת העברת דגימות קפואות אל מיכל החנקן הנוזלי או ממנו. זאת כדי להפחית את הסיכון לפציעה כתוצאה מפיצוץ אפשרי של הקריוביאל בעת הוצאתו, העלול לגרום להתזת רסיסים חדים.

Warranty

אנו עומדים מאחורי האיכות והכדאיות של המוצרים שלנו, Cytion-ב.
אנו מבטיחים שתאינו יהיו קיימים בתחילת התרבית למשך
יום לאחר המשלוח מהמתקנים שלנו 60.
אנו מבטיחים שכל החומרים תואמים למפרטים המתוארים
בתעודת הניתוח ו/או בדף המוצר.
לפרטים מלאים, אנא עיינו ב
הצהרת האחריות שלנו<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">

Material Transfer Agreement required	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