A375-GFP

305665

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

Az A375-GFP az A375 nevű humán malignus melanoma sejtvonal géntechnológiai úton létrehozott változata, amely stabil módon expresszálja a fokozott zöld fluoreszcens fehérjét (eGFP). Az eredeti A375 sejtvonal egy felnőtt beteg bőrmelanómájából származik, és széles körben használják a bőrmelanóma modelljeként, különösen az onkogén BRAF jelátvitelre irányuló kutatásokban, mivel hordozza a BRAF V600E mutációt. Ez a mutáció a MAPK/ERK jelátviteli út konstitutív aktiválódásához vezet, ami elősegíti a sejtek szaporodását és túlélését, így az A375 sejtek rendkívül alkalmasak olyan célzott terápiák vizsgálatára, mint a BRAF- és MEK-gátlók. A GFP-t expresszáló származék megőrzi ezeket a molekuláris és fenotípusos jellemzőket, miközben lehetővé teszi a fluoreszcencia-alapú alkalmazásokat.
Az eGFP-riporter stabil beépítése lehetővé teszi az A375-GFP sejtek valós idejű vizualizálását mind in vitro, mind in vivo rendszerekben. A fluoreszcens képalkotás megkönnyíti a sejtek proliferációjának, migrációjának, inváziójának és morfológiai változásainak nyomon követését, valamint a tumor növekedésének és a metasztatikus terjedésnek a nyomon követését xenotranszplantációs modellekben. A továbbfejlesztett GFP-variáns jobb fényerőt és stabilitást biztosít a korábbi GFP-konstrukciókhoz képest, így alacsony sejtszám esetén is érzékeny detektálást tesz lehetővé. Ez az A375-GFP-t különösen hasznossá teszi ko-kultúra kísérletekben, nagy felbontású képalkotó platformokon, valamint olyan vizsgálatokban, amelyek a tumorsejtek viselkedésének pontos térbeli felbontását igénylik.
Az A375-GFP megőrzi a szülői melanóma-vonal agresszív és proliferatív fenotípusát, beleértve a MAPK-útvonal-gátlókra való reagálóképességet, valamint az inváziós és metasztatikus képességet kísérleti modellekben. A GFP hozzáadása kiterjeszti alkalmazhatóságát a gyógyszerszűrés, az élősejt-képalkotás és a tumor–mikrokörnyezet kölcsönhatásának vizsgálata terén. Más riporterrel jelölt sejtvonalakhoz hasonlóan konkrét kísérleti alkalmazások esetén ajánlott a fluoreszcencia stabilitásának és a passzázsok közötti konzisztenciájának validálása.
Genetikai módosítás: Replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval stabilan módosítva a ZsGreen1 zöld fluoreszcens fehérje-riporter expressziójára; puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) alatt poliklonális populációként tartva. S1/BSL-1 biztonsági szint.

Szövet	Láb, bőr
Betegség	Amelanotikus melanoma

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Nő
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	1

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

A375-GFP (Cytion katalógusszám: 305665)

NCBI adóazonosító szám	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

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Antigén-expresszió

ZsGreen1 (zöld fluoreszkáló fehérje)

Mutációs profil

Mutáció: BRAF, egyszerű, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigóta (szülő sejtvonalból).Mutáció, CDKN2A, egyszerű, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozigóta (szülő sejtvonalból).Mutáció, CDKN2A, egyszerű, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozigóta (szülő sejtvonalból).Mutáció, TERT, egyszerű, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nem meghatározott, megjegyzés = promóterben (szülő sejtvonalból).

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Ültetési sűrűség	1–3 x 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

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

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	54 év
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Anyagátadási megállapodás szükséges	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