A375-GFP

305665

INFORMASI UMUM

Deskripsi

A375-GFP adalah varian yang direkayasa secara genetik dari garis sel melanoma ganas manusia A375, yang secara stabil mengekspresikan protein fluoresensi hijau yang diperkuat (eGFP). Lini sel induk A375 berasal dari tumor melanoma kulit pada seorang pasien dewasa dan banyak digunakan sebagai model untuk melanoma kulit, khususnya untuk penelitian yang melibatkan sinyal BRAF onkogenik, karena mengandung mutasi BRAF V600E. Mutasi ini menyebabkan aktivasi konstitutif jalur MAPK/ERK, yang mendorong proliferasi dan kelangsungan hidup sel, sehingga menjadikan sel A375 sangat relevan untuk meneliti terapi bertarget seperti penghambat BRAF dan MEK. Turunan yang mengekspresikan GFP ini mempertahankan karakteristik molekuler dan fenotipik tersebut sekaligus memungkinkan aplikasi berbasis fluoresensi.

Penggabungan reporter eGFP yang stabil memungkinkan visualisasi sel A375-GFP secara real-time baik dalam sistem in vitro maupun in vivo. Pencitraan fluoresensi memudahkan pemantauan proliferasi sel, migrasi, invasi, dan perubahan morfologi, serta pelacakan pertumbuhan tumor dan penyebaran metastasis pada model xenograft. Varian GFP yang ditingkatkan ini memberikan kecerahan dan stabilitas yang lebih baik dibandingkan dengan konstruksi GFP sebelumnya, sehingga memungkinkan deteksi yang sensitif bahkan pada jumlah sel yang rendah. Hal ini menjadikan A375-GFP sangat berguna dalam eksperimen kultur bersama, platform pencitraan berkonten tinggi, dan studi yang memerlukan resolusi spasial yang presisi terhadap perilaku sel tumor.

A375-GFP mempertahankan fenotipe agresif dan proliferatif dari garis sel melanoma induknya, termasuk respons terhadap penghambat jalur MAPK serta kemampuan invasi dan metastasis dalam model eksperimental. Penambahan GFP memperluas kegunaannya untuk skrining obat, pencitraan sel hidup, dan studi interaksi tumor–mikrolingkungan. Sebagaimana garis sel berlabel reporter lainnya, validasi stabilitas dan konsistensi fluoresensi di seluruh generasi sel direkomendasikan untuk aplikasi eksperimental tertentu.

Modifikasi genetik: Dimodifikasi secara stabil melalui transduksi lentivirus yang tidak mampu bereplikasi untuk mengekspresikan reporter protein fluoresensi hijau ZsGreen1; dipertahankan sebagai populasi poliklonal di bawah seleksi puromisin (1–5 µg/mL). Tingkat pengamanan S1/BSL-1.

Tisu	Kaki, kulit
Penyakit	Melanoma amelanotik

KLASIFIKASI

Organisme	Manusia
Seks	Perempuan
Sifat-sifat pertumbuhan	Pengikut
Status GMO	GMO-S1

Rincian status GMO

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.

Tingkat keamanan hayati	1

PENGIDENTIFIKASI

Referensi

A375-GFP (nomor katalog Cytion 305665)

Nomor Identifikasi Pajak NCBI	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

EKSPRESI DAN KERENTANAN

Ekspresi antigen

ZsGreen1 (protein fluoresen hijau)

Profil mutasi

Mutasi: BRAF, Sederhana, p.Val600Glu (c.1799T>A), Homozigot (dari garis sel induk).Mutasi, CDKN2A, Sederhana, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), Homozigot (dari garis sel induk).Mutasi, CDKN2A, Sederhana, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Homozigot (dari garis sel induk).Mutasi, TERT, Sederhana, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Tidak ditentukan, Catatan=Di promotor (dari garis sel induk).

PENANGANAN DAN BUDIDAYA

Media kultur

DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)

Suasana inkubasi	37°C, 5%CO2, atmosfer yang dilembabkan.

Suplemen

Tambahkan media dengan 10% FBS

Reagen disosiasi	Accutase

Perbanyakan sel

Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

Kepadatan penanaman	1 hingga 3 x 10^4 sel/cm^2
Pergantian cairan	2 hingga 3 kali per minggu

Pencairan dan pembiakan

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

PENGENDALIAN MUTU DAN KRIOPRESERVASI

Media pembekuan	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap + 10% DMSO untuk kelangsungan hidup pasca-pencairan yang memadai.

Kondisi penyimpanan

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Ketentuan pengiriman

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

DONATUR

Usia donor	54 tahun
Etnis	Kaukasia

HUKUM DAN KESELAMATAN

Tindakan pencegahan keselamatan

Ketika berencana menyimpan kriovial dalam nitrogen cair untuk pencairan di masa mendatang, Anda wajib mematuhi langkah-langkah keamanan yang ketat. Sarung tangan dan pakaian pelindung yang tepat sangat penting, dan penggunaan masker wajah atau kacamata pengaman diperlukan selama pemindahan sampel beku ke atau dari tangki nitrogen cair. Hal ini untuk mengurangi risiko cedera akibat potensi ledakan cryovial pada saat pemindahan, yang dapat mengakibatkan proyeksi fragmen tajam.

Garansi

Di Cytion, kami mendukung kualitas dan kelangsungan hidup produk kami.
Kami menjamin bahwa sel kami akan dapat bertahan hidup pada awal kultur selama 60 hari setelah pengiriman dari fasilitas kami.
Kami menjamin bahwa semua bahan sesuai dengan spesifikasi yang dijelaskan dalam Sertifikat Analisis dan / atau Lembar Produk
Untuk detail lengkap, silakan merujuk ke <a href=""/Siapa-kami-Garansi/Garansi/"" hreflang=""x-default"">Pernyataan Jaminan kami

Diperlukan Perjanjian Transfer Material	Yes