A375-GFP

305665

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

A375-GFP è una variante geneticamente modificata della linea cellulare A375 del melanoma maligno umano, che esprime in modo stabile la proteina fluorescente verde potenziata (eGFP). La linea cellulare parentale A375 deriva da un tumore di melanoma cutaneo in un paziente adulto ed è ampiamente utilizzata come modello per il melanoma cutaneo, in particolare per studi che coinvolgono la segnalazione oncogenica di BRAF, poiché presenta la mutazione BRAF V600E. Questa mutazione porta all'attivazione costitutiva della via MAPK/ERK, favorendo la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule e rendendo le cellule A375 particolarmente rilevanti per lo studio di terapie mirate, quali gli inibitori di BRAF e MEK. Il derivato che esprime la GFP conserva queste caratteristiche molecolari e fenotipiche, consentendo al contempo applicazioni basate sulla fluorescenza.
L'incorporazione stabile del reporter eGFP consente la visualizzazione in tempo reale delle cellule A375-GFP sia in sistemi in vitro che in vivo. L'imaging a fluorescenza facilita il monitoraggio della proliferazione, della migrazione, dell'invasione e dei cambiamenti morfologici delle cellule, nonché il tracciamento della crescita tumorale e della diffusione metastatica nei modelli di xenotrapianto. La variante potenziata della GFP offre maggiore luminosità e stabilità rispetto ai precedenti costrutti GFP, consentendo un rilevamento sensibile anche in presenza di un numero ridotto di cellule. Ciò rende l'A375-GFP particolarmente utile negli esperimenti di cocultura, nelle piattaforme di imaging ad alto contenuto e negli studi che richiedono una risoluzione spaziale precisa del comportamento delle cellule tumorali.
A375-GFP mantiene il fenotipo aggressivo e proliferativo della linea di melanoma parentale, compresa la risposta agli inibitori della via MAPK e la capacità di invasione e metastasi nei modelli sperimentali. L'aggiunta della GFP ne amplia l'utilità per lo screening farmacologico, l'imaging su cellule vive e gli studi sull'interazione tra tumore e microambiente. Come per altre linee cellulari marcate con reporter, per applicazioni sperimentali specifiche si raccomanda la validazione della stabilità e dell'uniformità della fluorescenza nel corso dei passaggi.
Modifica genetica: modificata in modo stabile tramite trasduzione lentivirale a replicazione incompetente per esprimere il reporter della proteina fluorescente verde ZsGreen1; mantenuta come popolazione policlonale sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). Contenimento S1/BSL-1.

Tessuto	Gamba, pelle
Malattia	Melanoma amelanotico

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Donna
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli OGM

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.

Livello di biosicurezza	1

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

A375-GFP (codice catalogo Cytion 305665)

Codice fiscale 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

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Espressione dell'antigene

ZsGreen1 (proteina fluorescente verde)

Profilo mutazionale

Mutazione: BRAF, semplice, p.Val600Glu (c.1799T>A), omozigote (derivante dalla linea cellulare parentale).Mutazione, CDKN2A, semplice, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), omozigote (dalla linea cellulare parentale).Mutazione, CDKN2A, Semplice, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Omozigote (dalla linea cellulare parentale).Mutazione, TERT, Semplice, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Non specificata, Nota=Nel promotore (dalla linea cellulare parentale).

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO3, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Densità di semina	Da 1 a 3 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana

Scongelamento e coltura

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

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelamento.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	54 anni
Etnia	Caucasico

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

È richiesto un accordo di trasferimento di materiale	Yes