A375-GFP

305665

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

A375-GFP yra genetiškai modifikuotas žmogaus piktybinės melanomos ląstelių linijos A375 variantas, kuriame stabiliai ekspresuojamas sustiprintas žaliasis fluorescuojantis baltymas (eGFP). Pirminė A375 ląstelių linija yra gauta iš suaugusio paciento odos melanomos naviko ir plačiai naudojama kaip odos melanomos modelis, ypač tyrimuose, susijusiuose su onkogeniniu BRAF signalizavimu, nes joje yra BRAF V600E mutacija. Ši mutacija sukelia nuolatinę MAPK/ERK signalo kelio aktyvaciją, skatinančią ląstelių proliferaciją ir išlikimą, todėl A375 ląstelės yra labai tinkamos tikslinio gydymo, pavyzdžiui, BRAF ir MEK inhibitorių, tyrimams. GFP ekspresuojantis variantas išlaiko šias molekulinės ir fenotipines savybes, tuo pačiu sudarydamas galimybes taikyti fluorescencijos pagrįstus metodus.
Stabilus eGFP reporterio įterpimas leidžia realiuoju laiku stebėti A375-GFP ląsteles tiek in vitro, tiek in vivo sistemose. Fluorescencinis vaizdavimas palengvina ląstelių proliferacijos, migracijos, invazijos ir morfologinių pokyčių stebėjimą, taip pat naviko augimo ir metastazių plitimo sekimą ksenotransplantacijos modeliuose. Patobulintas GFP variantas, palyginti su ankstesniais GFP konstruktas, užtikrina didesnį ryškumą ir stabilumą, todėl leidžia jautriai aptikti net esant mažam ląstelių skaičiui. Dėl to A375-GFP yra ypač naudinga atliekant bendros kultūros eksperimentus, naudojant didelės informacijos talpos vaizdinimo platformas ir atliekant tyrimus, kuriuose reikalinga tiksli naviko ląstelių elgesio erdvinė skiriamoji geba.
A375-GFP išlaiko pirminės melanomos linijos agresyvų ir proliferacinį fenotipą, įskaitant reakciją į MAPK kelio inhibitorius bei invazijos ir metastazavimo gebėjimus eksperimentiniuose modeliuose. GFP įtraukimas išplečia jo pritaikymo galimybes vaistų atrankai, gyvų ląstelių vaizdinimui ir naviko bei mikroaplinkos sąveikos tyrimams. Kaip ir kitų reporteriniu žymekliu pažymėtų ląstelių linijų atveju, konkretiems eksperimentiniams taikymams rekomenduojama patikrinti fluorescencijos stabilumą ir nuoseklumą per visus pasėlių kartus.
Genetinė modifikacija: stabiliai modifikuota replikacijos nesugebančiu lentivirusiniu transdukavimu, kad ekspresuotų „ZsGreen1“ žalios fluorescencijos baltymo reporterį; išlaikoma kaip polikloninė populiacija, atrinkta puromicinu (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 saugumo lygis.

Audinys	Kojos, oda
Liga	Amelanotinė melanoma

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Moteris
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

A375-GFP (Cytion katalogo numeris 305665)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	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

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Antigeno ekspresija

ZsGreen1 (žaliasis fluorescuojantis baltymas)

Mutacijų profilis

Mutacija: BRAF, paprasta, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigotinė (iš tėvinės ląstelių linijos).Mutacija, CDKN2A, paprasta, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozigotinė (iš tėvinės ląstelių linijos).Mutacija, CDKN2A, paprasta, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozigotinė (iš tėvinės ląstelių linijos).Mutacija, TERT, paprasta, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nenurodyta, pastaba = promotoriuje (iš tėvinės ląstelių linijos).

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS

Disociacijos reagentas	Accutase

Subkultūrinis auginimas

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Sėjos tankis	1–3 x 10^4 ląstelės/cm^2
Skysčių atnaujinimas	2-3 kartus per savaitę

Atšildymas ir auginimas

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

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	54 metai
Etninė priklausomybė	Kaukaziečių

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Reikalinga medžiagų perdavimo sutartis	Yes