A375-GFP

305665

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

A375-GFP ir ģenētiski modificēts cilvēka ļaundabīgās melanomas šūnu līnijas A375 variants, kas stabili ekspresē pastiprinātu zaļo fluorescējošo proteīnu (eGFP). Sākotnējā A375 šūnu līnija ir iegūta no pieauguša pacienta ādas melanomas audzēja un tiek plaši izmantota kā ādas melanomas modelis, jo īpaši pētījumos, kas saistīti ar onkogēno BRAF signālceļu, jo tajā ir BRAF V600E mutācija. Šī mutācija izraisa MAPK/ERK signālceļa konstitutīvu aktivāciju, veicinot šūnu proliferāciju un izdzīvošanu, tādējādi padarot A375 šūnas ļoti piemērotas mērķtiecīgu terapiju, piemēram, BRAF un MEK inhibitoru, izpētei. GFP ekspresējošais atvasinājums saglabā šīs molekulārās un fenotipiskās īpašības, vienlaikus ļaujot veikt uz fluorescenci balstītus pētījumus.
Stabila eGFP reportera iekļaušana ļauj reāllaikā vizualizēt A375-GFP šūnas gan in vitro, gan in vivo sistēmās. Fluorescences attēlveidošana atvieglo šūnu proliferācijas, migrācijas, invāzijas un morfoloģisko izmaiņu uzraudzību, kā arī audzēja augšanas un metastāžu izplatības izsekošanu ksenotransplantātu modeļos. Uzlabotais GFP variants nodrošina labāku spilgtumu un stabilitāti salīdzinājumā ar agrākajiem GFP konstruktiem, ļaujot veikt jutīgu noteikšanu pat pie maza šūnu skaita. Tas padara A375-GFP īpaši noderīgu kopkultūras eksperimentos, augstas izšķirtspējas attēlveidošanas platformās un pētījumos, kuros nepieciešama precīza audzēja šūnu uzvedības telpiskā izšķirtspēja.
A375-GFP saglabā vecāku melanomas līnijas agresīvo un proliferatīvo fenotipu, tostarp reaģēšanu uz MAPK ceļa inhibitoriem un spēju invazēt un veidot metastāzes eksperimentālajos modeļos. GFP pievienošana paplašina tās pielietojamību zāļu skrīningā, dzīvo šūnu attēlveidošanā un audzēja un mikroapvidus mijiedarbības pētījumos. Tāpat kā citām ar reporteru marķētām šūnu līnijām, konkrētiem eksperimentāliem pielietojumiem ieteicams pārbaudīt fluorescences stabilitāti un konsekvenci visās pasāžās.
Ģenētiskā modifikācija: stabili modificēta ar replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju, lai ekspresētu ZsGreen1 zaļās fluorescences proteīna reporteru; tiek uzturēta kā poliklonāla populācija puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 drošības līmenis.

Audums	Kāja, āda
Slimība	Amelanotiskā melanoma

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

IDENTIFIKATORI

Atsauce

A375-GFP (Cytion kataloga numurs 305665)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	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

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Antigēna ekspresija

ZsGreen1 (zaļais fluorescējošais proteīns)

Mutāciju profils

Mutācija: BRAF, vienkārša, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigota (no vecāku šūnu līnijas).Mutācija, CDKN2A, vienkārša, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozigota (no vecāku šūnu līnijas).Mutācija, CDKN2A, vienkārša, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozigota (no vecāku šūnu līnijas).Mutācija, TERT, Vienkārša, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Neprecizēta, Piezīme=Promotorā (no vecāku šūnu līnijas).

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Sēšanas blīvums	1 līdz 3 x 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

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

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

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

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	54 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/''/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes