A375-GFP

305665

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

A375-GFP er en genetisk modifisert variant av den humane ondartede melanomcellelinjen A375, som stabilt uttrykker forsterket grønt fluorescerende protein (eGFP). Den opprinnelige A375-cellelinjen stammer fra en hudmelanomtumor hos en voksen pasient og brukes mye som modell for kutan melanom, særlig i studier som omhandler onkogen BRAF-signalering, da den bærer BRAF V600E-mutasjonen. Denne mutasjonen fører til konstant aktivering av MAPK/ERK-signalveien, noe som fremmer celleproliferasjon og overlevelse, og gjør A375-celler svært relevante for undersøkelse av målrettede terapier, slik som BRAF- og MEK-hemmere. Den GFP-uttrykkende varianten beholder disse molekylære og fenotypiske egenskapene, samtidig som den muliggjør fluorescensbaserte anvendelser.
Den stabile innbyggingen av eGFP-reporteren muliggjør visualisering i sanntid av A375-GFP-celler både i in vitro- og in vivo-systemer. Fluorescensavbildning letter overvåking av celleproliferasjon, migrasjon, invasjon og morfologiske endringer, samt sporing av tumorvekst og metastatisk spredning i xenotransplantatmodeller. Den forbedrede GFP-varianten gir økt lysstyrke og stabilitet sammenlignet med tidligere GFP-konstruksjoner, noe som muliggjør følsom deteksjon selv ved lave celletall. Dette gjør A375-GFP særlig nyttig i samdyrkningsforsøk, plattformer for high-content-avbildning og studier som krever presis romlig oppløsning av tumorcellers atferd.
A375-GFP opprettholder den aggressive og proliferative fenotypen til den opprinnelige melanomlinjen, inkludert respons på MAPK-signalveihhemmere og evnen til invasjon og metastasering i eksperimentelle modeller. Tilsetningen av GFP utvider bruksområdet for legemiddelscreening, avbildning av levende celler og studier av interaksjonen mellom svulst og mikromiljø. I likhet med andre reportermerkede cellelinjer anbefales det å validere fluorescensstabiliteten og konsistensen gjennom flere passasjer for spesifikke eksperimentelle anvendelser.
Genetisk modifisering: Stabilt modifisert ved replikasjonsinkompetent lentiviral transduksjon for å uttrykke det grønne fluorescerende proteinreporteren ZsGreen1; opprettholdes som en polyklonal populasjon under puromycin-seleksjon (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-inneslutning.

Vev	Ben, hud
Sykdom	Amelanotisk melanom

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Kvinne
Vekstegenskaper	Tilhenger
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-status

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.

Biosikkerhetsnivå	1

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

A375-GFP (Cytion-katalognummer 305665)

NCBI-skattenummer	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

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Antigenuttrykk

ZsGreen1 (grønt fluorescerende protein)

Mutasjonsprofil

Mutasjon: BRAF, enkel, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygot (fra foreldrecellelinje).Mutasjon, CDKN2A, enkel, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygot (fra foreldrecellelinje).Mutasjon, CDKN2A, enkel, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygot (fra foreldrecellelinje).Mutasjon, TERT, Enkel, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Uspesifisert, Merk=I promotor (fra foreldrecellelinje).

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Såtetthet	1 til 3 x 10^4 celler/cm^2
Væskefornyelse	2 til 3 ganger per uke

Tining og dyrking

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

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	54 år
Etnisitet	Kaukasisk

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtale om materialoverføring kreves	Yes