A375-GFP

305665

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

A375-GFP is een genetisch gemodificeerde variant van de menselijke kwaadaardige melanoomcellijn A375, die op stabiele wijze het versterkte groene fluorescerende eiwit (eGFP) tot expressie brengt. De oorspronkelijke A375-cellijn is afkomstig van een huidmelanoomtumor bij een volwassen patiënt en wordt op grote schaal gebruikt als model voor huidmelanoom, met name voor onderzoek naar oncogene BRAF-signalering, aangezien deze de BRAF V600E-mutatie bevat. Deze mutatie leidt tot een constitutieve activering van de MAPK/ERK-route, wat de proliferatie en overleving stimuleert en A375-cellen zeer geschikt maakt voor onderzoek naar gerichte therapieën, zoals BRAF- en MEK-remmers. Het GFP-expresserende derivaat behoudt deze moleculaire en fenotypische kenmerken en maakt tegelijkertijd toepassingen op basis van fluorescentie mogelijk.
Door de stabiele integratie van de eGFP-reporter kunnen A375-GFP-cellen zowel in in-vitro- als in-vivo-systemen in realtime worden gevisualiseerd. Fluorescentiebeeldvorming vergemakkelijkt het monitoren van celproliferatie, migratie, invasie en morfologische veranderingen, evenals het volgen van tumorgroei en metastatische verspreiding in xenotransplantaatmodellen. De verbeterde GFP-variant biedt een hogere helderheid en stabiliteit in vergelijking met eerdere GFP-constructen, waardoor gevoelige detectie mogelijk is, zelfs bij lage celaantallen. Dit maakt A375-GFP bijzonder bruikbaar in co-cultuurexperimenten, high-content beeldvormingsplatforms en onderzoeken die een nauwkeurige ruimtelijke resolutie van het gedrag van tumorcellen vereisen.
A375-GFP behoudt het agressieve en proliferatieve fenotype van de oorspronkelijke melanoomlijn, inclusief de respons op remmers van de MAPK-route en het vermogen tot invasie en metastase in experimentele modellen. De toevoeging van GFP vergroot de bruikbaarheid ervan voor het screenen van geneesmiddelen, beeldvorming van levende cellen en onderzoek naar de interactie tussen tumor en micro-omgeving. Net als bij andere met een reporter gemerkte cellijnen wordt voor specifieke experimentele toepassingen aanbevolen de stabiliteit en consistentie van de fluorescentie over verschillende passages te valideren.
Genetische modificatie: Stabiel gemodificeerd door replicatie-incompetente lentivirale transductie om de ZsGreen1-groene fluorescerende eiwitreporter tot expressie te brengen; in stand gehouden als een polyklonale populatie onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-beheersingsniveau.

Weefsel	Been, huid
Ziekte	Amelanotisch melanoom

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	1

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

A375-GFP (Cytion-catalogusnummer 305665)

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

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Antigeenexpressie

ZsGreen1 (groen fluorescerend eiwit)

Mutatieprofiel

Mutatie: BRAF, enkelvoudig, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygoot (afkomstig van de oorspronkelijke cellijn).Mutatie, CDKN2A, eenvoudig, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygoot (van de oorspronkelijke cellijn).Mutatie, CDKN2A, eenvoudig, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygoot (van ouderlijke cellijn).Mutatie, TERT, Eenvoudig, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Niet gespecificeerd, Opmerking=In promotor (van oudercellijn).

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Zaaidichtheid	1 tot 3 x 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week

Ontdooien en kweken

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

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	54 jaar
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes