A375-GFP

305665

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

A375-GFP to zmodyfikowana genetycznie odmiana ludzkiej linii komórkowej czerniaka złośliwego A375, stabilnie wyrażająca białko wzmocnionej zielonej fluorescencji (eGFP). Pierwotna linia komórkowa A375 pochodzi z guza czerniaka skóry u dorosłego pacjenta i jest szeroko stosowana jako model czerniaka skórnego, szczególnie w badaniach dotyczących onkogennej sygnalizacji BRAF, ponieważ zawiera mutację BRAF V600E. Mutacja ta prowadzi do konstytutywnej aktywacji szlaku MAPK/ERK, stymulując proliferację i przeżywalność komórek, co sprawia, że komórki A375 są niezwykle przydatne w badaniach nad terapiami celowanymi, takimi jak inhibitory BRAF i MEK. Odmiana wyrażająca GFP zachowuje te cechy molekularne i fenotypowe, umożliwiając jednocześnie zastosowania oparte na fluorescencji.
Stabilne wbudowanie reporterowego eGFP pozwala na wizualizację komórek A375-GFP w czasie rzeczywistym zarówno w systemach in vitro, jak i in vivo. Obrazowanie fluorescencyjne ułatwia monitorowanie proliferacji, migracji, inwazji i zmian morfologicznych komórek, a także śledzenie wzrostu guza i rozprzestrzeniania się przerzutów w modelach ksenotransplantacyjnych. Ulepszony wariant GFP zapewnia większą jasność i stabilność w porównaniu z wcześniejszymi konstruktami GFP, umożliwiając czułe wykrywanie nawet przy małej liczbie komórek. Dzięki temu linia A375-GFP jest szczególnie przydatna w eksperymentach z hodowlą mieszaną, na platformach obrazowania o wysokiej zawartości informacji oraz w badaniach wymagających precyzyjnej rozdzielczości przestrzennej zachowania komórek nowotworowych.
Linia A375-GFP zachowuje agresywny i proliferacyjny fenotyp macierzystej linii czerniaka, w tym wrażliwość na inhibitory szlaku MAPK oraz zdolność do inwazji i tworzenia przerzutów w modelach eksperymentalnych. Dodanie GFP rozszerza jej zastosowanie w przesiewaniu leków, obrazowaniu żywych komórek oraz badaniach interakcji między nowotworem a mikrośrodowiskiem. Podobnie jak w przypadku innych linii komórkowych znakowanych reporterami, w konkretnych zastosowaniach eksperymentalnych zaleca się weryfikację stabilności fluorescencji i jej spójności w kolejnych pasażach.
Modyfikacja genetyczna: Stabilnie zmodyfikowana poprzez transdukcję lentiwirusową bez zdolności do replikacji w celu ekspresji reporterowego białka zielonej fluorescencji ZsGreen1; utrzymywana jako populacja poliklonalna pod selekcją puromycyną (1–5 µg/mL). Poziom bezpieczeństwa S1/BSL-1.

Chusteczka	Noga, skóra
Choroba	Czerniak amelanotyczny

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

IDENTYFIKATORY

Źródło

A375-GFP (numer katalogowy Cytion 305665)

Numer identyfikacji podatkowej 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

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Ekspresja antygenu

ZsGreen1 (zielone białko fluorescencyjne)

Profil mutacji

Mutacja: BRAF, mutacja punktowa, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygotyczna (pochodząca z linii komórkowej rodzica).Mutacja, CDKN2A, prosta, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, CDKN2A, prosta, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, TERT, prosta, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nieokreślona, uwaga = w promotorze (z macierzystej linii komórkowej).

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	1 do 3 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	54 lata
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes