A375-GFP

305665

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

A375-GFP je geneticky modifikovaná varianta ľudskej buneckej línie malígneho melanómu A375, ktorá stabilne exprimuje zvýšene zelený fluorescenčný proteín (eGFP). Pôvodná bunková línia A375 pochádza z kožného melanómu dospelého pacienta a je široko používaná ako model kožného melanómu, najmä pre štúdie týkajúce sa onkogénnej BRAF signalizácie, keďže obsahuje mutáciu BRAF V600E. Táto mutácia vedie k konštitutívnej aktivácii signálnej dráhy MAPK/ERK, čo podporuje proliferáciu a prežívanie buniek, vďaka čomu sú bunky A375 veľmi vhodné na skúmanie cielených terapií, ako sú inhibítory BRAF a MEK. Derivát exprimujúci GFP si zachováva tieto molekulárne a fenotypové charakteristiky a zároveň umožňuje aplikácie založené na fluorescencii.
Stabilná inkorporácia eGFP reportéra umožňuje vizualizáciu buniek A375-GFP v reálnom čase v systémoch in vitro aj in vivo. Fluorescenčné zobrazovanie uľahčuje monitorovanie bunkovej proliferácie, migrácie, invázie a morfologických zmien, ako aj sledovanie rastu nádoru a metastatického šírenia v xenotransplantačných modeloch. Vylepšená varianta GFP poskytuje vyššiu jasnosť a stabilitu v porovnaní s predchádzajúcimi konštruktmi GFP, čo umožňuje citlivú detekciu aj pri nízkom počte buniek. Vďaka tomu je A375-GFP obzvlášť užitočný v experimentoch s kokultúrami, na platformách zobrazovania s vysokým obsahom údajov a v štúdiách vyžadujúcich presné priestorové rozlíšenie správania nádorových buniek.
A375-GFP si zachováva agresívny a proliferatívny fenotyp pôvodnej línie melanómu, vrátane citlivosti na inhibítory MAPK dráhy a schopnosti invázie a metastázovania v experimentálnych modeloch. Pridanie GFP rozširuje jej využiteľnosť pri skríningu liekov, zobrazovaní živých buniek a štúdiách interakcie nádoru s mikroprostredím. Rovnako ako v prípade iných bunkových línií označených reportérom sa pre konkrétne experimentálne aplikácie odporúča overenie stability a konzistencie fluorescencie v priebehu pasáží.
Genetická modifikácia: Stabilne modifikovaná replikačne nekompetentnou lentivírusovou transdukciou na expresiu reportéra zeleného fluorescenčného proteínu ZsGreen1; udržiavaná ako polyklonálna populácia pod selekciou puromycínom (1–5 µg/ml). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.

Tkanivo	Noha, koža
Choroba	Amelanotický melanóm

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Človek
Sex	Žena
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o štatúte 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.

Úroveň biologickej bezpečnosti	1

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

A375-GFP (katalógové číslo Cytion 305665)

Daňové identifikačné číslo NCBI	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

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Expresia antigénu

ZsGreen1 (zelený fluorescenčný proteín)

Mutčný profil

Mutácia: BRAF, jednoduchá, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygotná (z rodičovskej bunky).Mutácia, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygotná (z rodičovskej bunky).Mutácia, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygotná (z rodičovskej bunky).Mutácia, TERT, jednoduchá, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nešpecifikovaná, poznámka = v promotore (z rodičovskej bunky).

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS

Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Hustota výsevu	1 až 3 x 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne

Rozmrazovanie a kultivácia

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 KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Mrazové médium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

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

DARCA

Vek darcu	54 rokov
Etnická príslušnosť	Kaukazský

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Je potrebná dohoda o prenose materiálu	Yes