A375-GFP

305665

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

A375-GFP je gensko spremenjena različica človeške celične linije malignega melanoma A375, ki stabilno izraža okrepljen zeleni fluorescenčni protein (eGFP). Izvorna celična linija A375 izhaja iz kožnega melanomskega tumorja pri odraslem pacientu in se pogosto uporablja kot model za kožni melanom, zlasti za študije, ki vključujejo onkogeno signalizacijo BRAF, saj vsebuje mutacijo BRAF V600E. Ta mutacija vodi do konstitutivne aktivacije poti MAPK/ERK, kar spodbuja proliferacijo in preživetje ter zaradi česar so celice A375 zelo primerne za raziskovanje ciljnih terapij, kot so zaviralci BRAF in MEK. Derivata, ki izraža GFP, ohranja te molekularne in fenotipne značilnosti, hkrati pa omogoča uporabo na podlagi fluorescenčnega slikanja.
Stabilna vgradnja eGFP-reporterja omogoča vizualizacijo celic A375-GFP v realnem času tako v sistemih in vitro kot in vivo. Fluorescenčno slikanje olajšuje spremljanje celične proliferacije, migracije, invazije in morfoloških sprememb ter sledenje rasti tumorja in metastaziranja v modelih ksenotransplantatov. Izboljšana različica GFP zagotavlja večjo svetlost in stabilnost v primerjavi s prejšnjimi GFP-konstrukti, kar omogoča občutljivo zaznavanje tudi pri majhnem številu celic. Zaradi tega je A375-GFP še posebej uporaben v poskusih s kokulturo, na platformah za visoko-vsebinsko slikanje ter v študijah, ki zahtevajo natančno prostorsko ločljivost vedenja tumorskih celic.
A375-GFP ohranja agresiven in proliferativni fenotip izvorne linije melanoma, vključno z odzivnostjo na zaviralce poti MAPK ter zmožnostjo invazije in metastaziranja v eksperimentalnih modelih. Dodatek GFP razširja njegovo uporabnost za presejanje zdravil, slikanje živih celic in študije interakcij med tumorjem in mikrookoljem. Tako kot pri drugih celičnih linijah, označenih z reporterjem, se za določene eksperimentalne namene priporoča preverjanje stabilnosti in doslednosti fluorescenčnega signala med posameznimi pasážami.
Genetska modifikacija: Stabilno modificirana z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo za izražanje zelenega fluorescenčnega beljakovinskega reporterja ZsGreen1; vzdrževana kot poliklonalna populacija pod selekcijo s puromicinom (1–5 µg/mL). Varnostna stopnja S1/BSL-1.

Tkivo	Noga, koža
Bolezen	Amelanotični melanom

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Ženska
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	1

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

A375-GFP (kataloška številka Cytion 305665)

Davčna identifikacijska številka 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

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Ekspresija antigena

ZsGreen1 (zeleni fluorescenčni protein)

Profil mutacij

Mutacija: BRAF, enostavna, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigotna (iz starševske celične linije).Mutacija, CDKN2A, preprosta, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozigotna (iz starševske celične linije).Mutacija, CDKN2A, preprosta, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozigotna (iz starševske celične linije).Mutacija, TERT, preprosta, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nedoločena, opomba = v promotorju (iz starševske celične linije).

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Gostota setve	1 do 3 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2 do 3-krat na teden

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	54 let
Etnična pripadnost	Kavkaški

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytіon stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Potreben je sporazum o prenosu materiala	Yes