A375-GFP

305665

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

A375-GFP är en genetiskt modifierad variant av den humana cellinjen A375 för malignt melanom, som stabilt uttrycker förstärkt grönt fluorescerande protein (eGFP). Den ursprungliga A375-cellinjen härstammar från en hudmelanomtumör hos en vuxen patient och används i stor utsträckning som modell för hudmelanom, särskilt för studier som rör onkogen BRAF-signalering, eftersom den bär på BRAF V600E-mutationen. Denna mutation leder till en konstant aktivering av MAPK/ERK-signalvägen, vilket driver celltillväxt och överlevnad och gör A375-cellerna särskilt relevanta för forskning kring riktade terapier, såsom BRAF- och MEK-hämmare. Den GFP-uttryckande varianten behåller dessa molekylära och fenotypiska egenskaper samtidigt som den möjliggör fluorescensbaserade tillämpningar.
Den stabila inkorporeringen av eGFP-reportern möjliggör visualisering i realtid av A375-GFP-celler i både in vitro- och in vivo-system. Fluorescensavbildning underlättar övervakning av cellproliferation, migration, invasion och morfologiska förändringar, samt spårning av tumörtillväxt och metastatisk spridning i xenotransplantatmodeller. Den förbättrade GFP-varianten ger ökad ljusstyrka och stabilitet jämfört med tidigare GFP-konstruktioner, vilket möjliggör känslig detektion även vid låga cellantal. Detta gör A375-GFP särskilt användbar i samodlingsförsök, plattformar för höginnehållsavbildning och studier som kräver exakt rumslig upplösning av tumörcellernas beteende.
A375-GFP behåller den aggressiva och proliferativa fenotypen hos den ursprungliga melanomlinjen, inklusive responsen på hämmare av MAPK-signalvägen och förmågan till invasion och metastasering i experimentella modeller. Tillsatsen av GFP utökar dess användbarhet för läkemedelsscreening, avbildning av levande celler och studier av interaktionen mellan tumör och mikromiljö. Precis som med andra reportermärkta cellinjer rekommenderas validering av fluorescensstabilitet och konsistens över olika passager för specifika experimentella tillämpningar.
Genetisk modifiering: Stabilt modifierad genom replikationsinkompetent lentiviral transduktion för att uttrycka det gröna fluorescerande proteinreportern ZsGreen1; hålls som en polyklonal population under puromycinselektion (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-säkerhetsklass.

Vävnad	Ben, hud
Sjukdom	Amelanotiskt melanom

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Kvinna
Tillväxtegenskaper	Följsam
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.

Biosäkerhetsnivå	1

IDENTIFIERARE

Källa

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

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Antigenuttryck

ZsGreen1 (grönt fluorescerande protein)

Mutationsprofil

Mutation: BRAF, enkel, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygot (från modercellinjen).Mutation, CDKN2A, enkel, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygot (från modercellinjen).Mutation, CDKN2A, enkel, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygot (från modercellinjen).Mutation, TERT, enkel, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), ospecificerad, anmärkning = i promotorn (från föräldracellinjen).

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Såtäthet	1 till 3 x 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	2 till 3 gånger per vecka

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Frysmedel	Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	54 år
Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytіon står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal om materialöverföring krävs	Yes