A375-GFP

305665

GENEL BILGILER

Açıklama

A375-GFP, insan malign melanom hücre hattı A375'in, güçlendirilmiş yeşil floresan proteini (eGFP) istikrarlı bir şekilde eksprese eden, genetik olarak değiştirilmiş bir varyantıdır. Ana A375 hücre hattı, yetişkin bir hastanın deri melanom tümöründen elde edilmiştir ve BRAF V600E mutasyonunu barındırması nedeniyle, özellikle onkojenik BRAF sinyal iletimi ile ilgili çalışmalarda, kutanöz melanom modeli olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu mutasyon, MAPK/ERK yolunun sürekli aktivasyonuna yol açarak hücre çoğalmasını ve hayatta kalmasını teşvik eder; bu da A375 hücrelerini, BRAF ve MEK inhibitörleri gibi hedefe yönelik tedavilerin araştırılması açısından son derece uygun hale getirir. GFP eksprese eden bu türev, floresan tabanlı uygulamalara olanak sağlarken bu moleküler ve fenotipik özellikleri de korur.
eGFP raportörünün stabil bir şekilde entegre edilmesi, hem in vitro hem de in vivo sistemlerde A375-GFP hücrelerinin gerçek zamanlı olarak görüntülenmesini sağlar. Floresan görüntüleme, hücre çoğalması, göçü, istilası ve morfolojik değişikliklerin izlenmesinin yanı sıra, ksenograft modellerinde tümör büyümesinin ve metastatik yayılımın takip edilmesini kolaylaştırır. Geliştirilmiş GFP varyantı, önceki GFP yapılarına kıyasla daha yüksek parlaklık ve stabilite sunarak, düşük hücre sayılarında bile hassas tespit yapılmasını sağlar. Bu özellik, A375-GFP'yi ko-kültür deneylerinde, yüksek içerikli görüntüleme platformlarında ve tümör hücresi davranışının hassas uzamsal çözünürlüğünü gerektiren çalışmalarda özellikle kullanışlı kılar.
A375-GFP, MAPK yolak inhibitörlerine yanıt verme özelliği ve deneysel modellerde invazyon ve metastaz kapasitesi dahil olmak üzere, ana melanom hattının agresif ve proliferatif fenotipini korur. GFP'nin eklenmesi, ilaç taraması, canlı hücre görüntüleme ve tümör-mikroortam etkileşimi çalışmaları için kullanım alanını genişletir. Diğer raportör etiketli hücre hatlarında olduğu gibi, belirli deneysel uygulamalar için pasajlar boyunca floresan stabilitesinin ve tutarlılığının doğrulanması önerilir.
Genetik modifikasyon: ZsGreen1 yeşil floresan protein raportörünü eksprese etmek üzere replikasyon yeteneği olmayan lentiviral transdüksiyon yoluyla stabil bir şekilde modifiye edilmiştir; puromisin seleksiyonu (1–5 µg/mL) altında poliklonal bir popülasyon olarak muhafaza edilir. S1/BSL-1 güvenlik seviyesinde tutulur.

Doku	Bacak, deri
Hastalık	Amelanotik melanom

SINIFLANDIRMA

Canlı	İnsan
Cinsiyet	Kadın
Büyüme özellikleri	Bağlı
GDO durumu	GMO-S1

GDO durumuna ilişkin ayrıntılar

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.

Biyogüvenlik seviyesi	1

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

A375-GFP (Cytion katalog numarası 305665)

NCBI Vergi Kimlik Numarası	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

İFADE VE DUYARLILIK

Antijen ekspresyonu

ZsGreen1 (yeşil floresan protein)

Mutasyon profili

Mutasyon: BRAF, Basit, p.Val600Glu (c.1799T>A), Homozigot (ana hücre dizisinden).Mutasyon, CDKN2A, Basit, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), Homozigot (ana hücre hattından).Mutasyon, CDKN2A, Basit, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Homozigot (ana hücre hattından).Mutasyon, TERT, Basit, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Belirtilmemiş, Not=Promotörde (ana hücre hattından).

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.

Takviyeler

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Ekim yoğunluğu	1 ila 3 x 10^4 hücre/cm^2
Sıvı değişimi	haftada 2 ila 3 kez

Çözme ve kültürleme

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

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

BAĞIŞÇI

Bağışçının yaşı	54 yıl
Etnik köken	Kafkas

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Malzeme Transfer Anlaşması gereklidir	Yes