A375-GFP

305665

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

A375-GFP — це генетично модифікований варіант клітинної лінії A375, що походить від злоякісної меланоми людини, який стабільно експресує посилений зелений флуоресцентний білок (eGFP). Базова клітинна лінія A375 походить від пухлини меланоми шкіри дорослого пацієнта і широко використовується як модель шкірної меланоми, зокрема для досліджень, пов'язаних з онкогенним сигнальним шляхом BRAF, оскільки вона містить мутацію BRAF V600E. Ця мутація призводить до постійної активації сигнального шляху MAPK/ERK, що стимулює проліферацію та виживання клітин, завдяки чому клітини A375 є надзвичайно актуальними для дослідження цільових терапій, таких як інгібітори BRAF та MEK. Похідна лінія, що експресує GFP, зберігає ці молекулярні та фенотипні характеристики, водночас забезпечуючи можливість застосування методів на основі флуоресценції.
Стабільне вбудовування репортера eGFP дозволяє візуалізувати клітини A375-GFP у реальному часі як в системах in vitro, так і in vivo. Флуоресцентна візуалізація полегшує моніторинг проліферації, міграції, інвазії та морфологічних змін клітин, а також відстеження росту пухлини та метастатичного поширення в моделях ксенотрансплантатів. Посилений варіант GFP забезпечує кращу яскравість та стабільність порівняно з попередніми конструкціями GFP, що дозволяє здійснювати чутливе виявлення навіть при невеликій кількості клітин. Це робить A375-GFP особливо корисним у експериментах із кокультурою, на платформах візуалізації з високою інформаційною насиченістю та в дослідженнях, що вимагають точної просторової роздільної здатності для вивчення поведінки пухлинних клітин.
A375-GFP зберігає агресивний та проліферативний фенотип батьківської лінії меланоми, включаючи чутливість до інгібіторів шляху MAPK та здатність до інвазії та метастазування в експериментальних моделях. Додавання GFP розширює можливості її використання для скринінгу лікарських засобів, візуалізації живих клітин та досліджень взаємодії пухлини з мікросередовищем. Як і у випадку з іншими клітинними лініями, міченими репортерами, для конкретних експериментальних застосувань рекомендується перевірити стабільність та сталість флуоресценції протягом пасажів.
Генетична модифікація: Стабільно модифікована шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції для експресії репортера — зеленого флуоресцентного білка ZsGreen1; утримується як поліклональна популяція під селекцією пуроміцином (1–5 мкг/мл). Рівень біобезпеки S1/BSL-1.

Тканина	Нога, шкіра
Хвороба	Амеланотична меланома

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Жінка
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	1

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

A375-GFP (номер у каталозі Cytion 305665)

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

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_QZ67

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Експресія антигену

ZsGreen1 (зелений флуоресцентний білок)

Профіль мутацій

Мутація: BRAF, проста, p.Val600Glu (c.1799T>A), гомозиготна (з батьківської клітинної лінії).Мутація, CDKN2A, проста, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), гомозиготна (від батьківської клітинної лінії).Мутація, CDKN2A, проста, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), гомозиготна (від батьківської клітинної лінії).Мутація, TERT, проста, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), неспецифікована, примітка = у промоторі (від батьківської клітинної лінії).

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Щільність висіву	Від 1 до 3 x 10^4 клітин/см2
Оновлення рідини	2-3 рази на тиждень

Розморожування та культивування

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

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Середовище для заморожування	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	54 роки
Етнічна приналежність	Кавказець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Необхідна угода про передачу матеріалів	Yes