

A549-RFP клетки | 305659

Обща информация

Description

A549-RFP е флуоресцентно маркирано производно на човешката клетъчна линия A549 на белодробен аденокарцином, създадена да изразява конститутивно червен флуоресцентен протеин (RFP) за визуализация и проследяване в реално време. Родителската линия A549 е създадена от белодробен аденокарцином, получен от възрастен донор, и проявява епителна морфология с характеристики на адхезивен растеж. Клетките A549 запазват характеристиките на алвеоларните епителни клетки от тип II, включително експресията на цитокератини и способността за производство на протеини, свързани със повърхностноактивни вещества. Въвеждането на стабилна касета за експресия на RFP позволява непрекъсната флуоресценция, без да променя значително вътрешните пролиферативни и метаболитни свойства на родителската линия, което прави A549-RFP подходящ за проучвания с продължително изображение.

Функционалната характеристика на A549 клетките в големи панели от ракови клетки е показала, че размерът на клетките, съдържанието на протеини и скоростта на протеиновия синтез са положително корелирани с обема на клетките и че по-големите клетки са склонни да пролиферират по-бавно. В сравнителни анализи A549 клетките са позиционирани сред относително по-малките, по-бързо пролифериращи епителни ракови клетъчни линии, в контраст с по-големите, по-мезенхимни клетки, които показват по-висока експресия на виментинин и по-ниски нива на E-кадхерин. Тези метаболитни и фенотипни различия са от значение за експерименталната интерпретация, тъй като скоростта на синтеза на протеини и метаболитните потоци се променят в зависимост от размера на клетките и влияят върху чувствителността към агенти, насочени към пролиферацията или анаболните пътища, регулирани от mTOR. Модификацията с RFP запазва пригодността на A549 клетките за такива метаболитни и фармакологични изследвания, като същевременно позволява директна визуализация.

A549-RFP се използва широко в системи за съвместна култура, ортотопични и ектопични ксенографтни модели и тестове за инвазия или метастази, където флуоресцентното маркиране улеснява разграничаването на туморните клетки от стромалните или приемните компоненти. Стабилната червена флуоресценция поддържа приложения, включително изображения на живи клетки, скрининг с високо съдържание, количествено определяне на базата на проточна цитометрия и оптични изображения *in vivo*. Като проследима вариация на добре характеризирания модел на белодробен аденокарцином, A549-RFP предоставя стабилна платформа за изучаване на пролиферацията на туморните клетки, епително-мезенхимната транзиция, реакцията на лекарствата и взаимодействията между тумора и микросредата както *in vitro*, така и *in vivo*.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Disease Белодробен аденокарцином

Synonyms A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Характеристики

Age 58 години

A549-RFP клетки | 305659

Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	A549-RFP (номер в каталога на Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Тази линия на белодробен карцином A549 съдържа лентивирусна RFP конструкция, позволяваща изображения с червена флуоресценция. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	RFP
MSI-status	Мутация: p.Gly12Ser, хомозиготна; Мутация: p.Gln37Ter, хомозиготна
Mutational profile	Мутация: p.Gly12Ser, хомозиготна; Мутация: p.Gln37Ter, хомозиготна

Работа с

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), съдържание: 3,1 g/l глюкоза, съдържание: 2,5 mM L-глутамин, съдържание: 15 mM HEPES, съдържание: 0,5 mM натриев пируват, съдържание: 1,2 g/l NaHCO ₃ (артикулен номер на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A549-RFP клетки | 305659**Doubling time** 20-40 часа**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.**Thawing and Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $200 \times g$ в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.**Flask Coating** Няма**Shipping Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

A549-RFP клетки | 305659

**Storage
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA