Product sheet

A549-RFP клетки | 305659

Обща информация

Description	A549-RFP е флуоресцентно маркирано производно на човешката клетъчна линия A549 за белодробен аденокарцином, модифицирана така, че да експресира постоянно червен флуоресцентен протеин (RFP) с цел 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 сурфактанта. Въвеждането на касета за стабилна експресия на RFP позволява непрекъсната флуоресценция, без да се променят значително присъщите пролиферативни и метаболитни свойства на родителската линия, което прави A549-RFP подходяща за проучвания с продолно визуализиране. Функционалната характеристика на клетките A549 в рамките на големи панели от ракови клетки е показала, че размерът на клетките, съдържанието на протеини и скоростта на синтеза на протеини са положително корелирани с обема на клетките и че по-големите клетки са склонни да пролиферират по-бавно. При сравнителни анализи клетките A549 се нареждат сред относително по-малките, по-бързо пролифериращи епителни ракови клетъчни линии, за разлика от по-големите, по-мезенхимноподобни клетки, които проявяват по-висока експресия на виментин 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 варират в зависимост от размера на клетките и влияят върху чувствителността към агенти, насочени към пролиферацията или към анаболните пътища, регулирани от mTOR. Модификацията с RFP запазва пригодността на клетките A549 за такива метаболитни и фармакологични изследвания, като същевременно позволява пряка визуализация. A549-RFP се използва широко в системи за съвместна култура, ортотопични и ектопични модели на ксенографти, както и в тестове за инвазия или метастази, при които флуоресцентното маркиране улеснява разграничаването на туморните клетки от стромалните или хост компонентите. Стабилната червена флуоресценция поддържа приложения, включително визуализация на живи клетки, скрининг с високо съдържание, количествено определяне чрез проточна цитометрия и оптична визуализация in vivo. Като проследяем вариант на добре характеризиран модел на белодробен аденокарцином, A549-RFP предоставя надеждна платформа за изучаване на пролиферацията на туморните клетки, епителиално-мезенхимния преход, реакцията към лекарства и взаимодействията между тумора и микросредата както in vitro, така и in vivo. **Генетична модификация:** Стабилно модифициран чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция за експресия на репортерния червен флуоресцентен протеин (RFP); поддържа се като поликлонална популация при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Ниво на биологична безопасност S1/BSL-1.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Белодробен аденокарцином

A549-RFP клетки | 305659

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

Характеристики

Age	58 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Growth properties	Придържащи 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 клетъчна линия съдържа стабилно интегриран репортер от типа на червения флуоресцентен протеин (RFP), въведен чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (червен флуоресцентен протеин)
MSI-status	Мутация: p.Gly12Ser, хомозиготна; Мутация: p.Gln37Ter, хомозиготна
Mutational profile	Мутация: p.Gly12Ser, хомозиготна; Мутация: p.Gln37Ter, хомозиготна

A549-RFP клетки | 305659

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 NaHCO3 (артикулен номер на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.

7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

A549-RFP клетки | 305659

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
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 и молекулярен анализ