Product sheet

Buňky A549-RFP | 305659

Obecné informace

Description	A549-RFP je fluorescenčně značený derivát lidské buněčné linie A549 z plicního adenokarcinomu, který byl geneticky upraven tak, aby konstitutivně exprimoval červený fluorescenční protein (RFP) pro vizualizaci a sledování v reálném čase. Původní buněčná linie A549 byla založena z plicního adenokarcinomu od dospělého dárce a vykazuje epiteliální morfologii s charakteristikami adhezivního růstu. Buňky A549 si zachovávají vlastnosti alveolárních epiteliálních buněk typu II, včetně exprese cytokeratinů a schopnosti produkovat proteiny spojené se surfaktantem. Zavedení kazety pro stabilní expresi RFP umožňuje nepřetržitou fluorescenci, aniž by došlo k významné změně vnitřních proliferačních a metabolických vlastností původní linie, díky čemuž je linie A549-RFP vhodná pro longitudinální zobrazovací studie. Funkční charakterizace buněk A549 v rámci rozsáhlých panelů nádorových buněk prokázala, že velikost buněk, obsah bílkovin a rychlost syntézy bílkovin pozitivně korelují s objemem buněk a že větší buňky mají tendenci se množit pomaleji. V srovnávacích analýzách se buňky A549 řadí mezi relativně menší, rychleji se množící epiteliální nádorové buněčné linie, na rozdíl od větších, spíše mezenchymálních buněk, které vykazují vyšší expresi vimentinu a nižší hladiny E-kadherinu. Tyto metabolické a fenotypové rozdíly jsou relevantní pro interpretaci experimentálních výsledků, jelikož rychlost syntézy bílkovin a metabolické toky se mění v závislosti na velikosti buněk a ovlivňují citlivost na látky zaměřené na proliferaci nebo na anabolické dráhy regulované mTOR. Modifikace RFP zachovává vhodnost buněk A549 pro takové metabolické a farmakologické výzkumy a zároveň umožňuje jejich přímou vizualizaci. A549-RFP se široce používá v systémech společných kultur, ortotopických a ektopických modelech xenotransplantátů a v testech invaze či metastázování, kde fluorescenční značení usnadňuje rozlišení nádorových buněk od stromálních nebo hostitelských složek. Stabilní červená fluorescence podporuje aplikace včetně zobrazování živých buněk, screeningu s vysokým obsahem dat, kvantifikace založené na průtokové cytometrii a optického zobrazování in vivo. Jako sledovatelná varianta dobře charakterizovaného modelu plicního adenokarcinomu poskytuje A549-RFP robustní platformu pro studium proliferace nádorových buněk, epiteliálně-mezenchymální transformace, reakce na léčiva a interakcí mezi nádorem a mikroprostředím jak v podmínkách in vitro, tak in vivo. **Genetická modifikace:** Stabilně modifikováno lentivirovou transdukcí neschopnou replikace tak, aby exprimovalo reportér v podobě červeného fluorescenčního proteinu (RFP); udržováno jako polyklonální populace pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.
Organism	Člověk
Tissue	Plíce
Disease	Adenokarcinom plic
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Charakteristika

Age	58 let

Buňky A549-RFP | 305659

Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	A549-RFP (katalogové číslo Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovaný reportér v podobě červeného fluorescenčního proteinu (RFP), který byl zaveden pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována v podmínkách selekce puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (červený fluorescenční protein)
MSI-status	Mutace: p.Gly12Ser, homozygotní; Mutace: p.Gln37Ter, homozygotní
Mutational profile	Mutace: p.Gly12Ser, homozygotní; Mutace: p.Gln37Ter, homozygotní

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (v poměru 1:1), obsah: 3,1 g/l glukózy, obsah: 2,5 mM L-glutaminu, obsah: 15 mM HEPES, obsah: 0,5 mM pyruvátu sodného, obsah: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS

Buňky A549-RFP | 305659

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 hodin
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte. 7. Postupujte podle postupu popsaného v části Obnova po rozmrazení
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza