Product sheet

A549-RFP-celler | 305659

Generel information

Description	A549-RFP er et fluorescensmærket derivat af den humane A549-lungeadenokarcinomcellelinje, der er genetisk modificeret til konstant at udtrykke rødt fluorescerende protein (RFP) med henblik på visualisering og sporing i realtid. Den oprindelige A549-linje blev etableret ud fra et lungeadenokarcinom fra en voksen donor og udviser epitelial morfologi med adhærent vækst. A549-celler bevarer træk fra type II-alveolære epitelceller, herunder ekspression af cytokeratiner og evnen til at producere overfladeaktive proteiner. Indførelsen af en stabil RFP-ekspressionskassette muliggør kontinuerlig fluorescens uden væsentligt at ændre den oprindelige cellelinjes iboende proliferative og metaboliske egenskaber, hvilket gør A549-RFP velegnet til longitudinale billeddannelsesundersøgelser. Funktionel karakterisering af A549-celler inden for store kræftcellepaneler har vist, at cellestørrelse, proteinindhold og proteinsyntesehastighed er positivt korreleret med cellevolumen, og at større celler har tendens til at proliferere langsommere. I sammenlignende analyser indplaceres A549-celler blandt relativt mindre, hurtigere prolifererende epiteliale kræftcellelinjer, i modsætning til større, mere mesenkymlignende celler, der udviser højere vimentin-ekspression og lavere E-cadherin-niveauer. Disse metaboliske og fænotypiske forskelle er relevante for den eksperimentelle fortolkning, da proteinsyntesehastigheder og metaboliske strømme varierer med cellestørrelsen og påvirker følsomheden over for stoffer, der er rettet mod proliferation eller mTOR-regulerede anabolske signalveje. RFP-modifikationen bevarer A549-cellernes egnethed til sådanne metaboliske og farmakologiske undersøgelser, samtidig med at den muliggør direkte visualisering. A549-RFP anvendes i vid udstrækning i samdyrkningssystemer, ortotopiske og ektopiske xenotransplantatmodeller samt i invasions- eller metastasetests, hvor fluorescerende mærkning letter skelnen mellem tumorceller og stromale eller værtskomponenter. Den stabile røde fluorescens understøtter anvendelser, herunder billeddannelse af levende celler, high-content-screening, kvantificering baseret på flowcytometri og optisk billeddannelse in vivo. Som en sporbare variant af en velkarakteriseret model for lungeadenokarcinom udgør A549-RFP en robust platform til undersøgelse af tumorcelleproliferation, epitel-mesenkym-overgang, lægemiddelrespons samt interaktioner mellem tumor og mikromiljø i både in vitro- og in vivo-sammenhænge. **Genetisk modifikation:** Stabilt modificeret ved replikationsinkompetent lentiviral transduktion til at udtrykke et rødt fluorescerende protein (RFP) som reporter; opretholdes som en polyklonal population under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-indeslutning.
Organism	Menneske
Tissue	Lunge
Disease	Adenokarcinom i lungerne
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Karakteristika

Age	58 år

A549-RFP-celler | 305659

Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	A549-RFP (Cytion-katalognummer 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Denne cellelinje indeholder et stabilt integreret rødt fluorescerende protein (RFP) som reporter, der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (rødt fluorescerende protein)
MSI-status	Mutation: p.Gly12Ser, homozygot; Mutation: p.Gln37Ter, homozygot
Mutational profile	Mutation: p.Gly12Ser, homozygot; Mutation: p.Gln37Ter, homozygot

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), indeholdende: 3,1 g/l glukose, 2,5 mM L-glutamin, 15 mM HEPES, 0,5 mM natriumpyruvat, 1,2 g/l $NaHCO_3$ (Cytion-varenummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS

A549-RFP-celler | 305659

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20-40 timer
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium. 7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse