Product sheet

Κύτταρα A549-RFP | 305659

Γενικές πληροφορίες

Description	Το A549-RFP είναι ένα παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς A549 αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα, το οποίο έχει υποστεί φθορίζουσα σήμανση και έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει συνεχώς την κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (RFP) για οπτικοποίηση και παρακολούθηση σε πραγματικό χρόνο. Η μητρική σειρά A549 δημιουργήθηκε από αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα που προήλθε από ενήλικα δότη και παρουσιάζει επιθηλιακή μορφολογία με χαρακτηριστικά προσκολλητικής ανάπτυξης. Τα κύτταρα A549 διατηρούν χαρακτηριστικά των κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων τύπου II, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης κυτοκερατινών και της ικανότητας παραγωγής πρωτεϊνών που σχετίζονται με το επιφανειοδραστικό. Η εισαγωγή μιας σταθερής κασέτας έκφρασης RFP επιτρέπει τη συνεχή φθορισμό χωρίς να αλλοιώνει σημαντικά τις εγγενείς πολλαπλασιαστικές και μεταβολικές ιδιότητες της γονικής σειράς, καθιστώντας την A549-RFP κατάλληλη για διαχρονικές μελέτες απεικόνισης. Ο λειτουργικός χαρακτηρισμός των κυττάρων A549 στο πλαίσιο ευρέων πάνελ καρκινικών κυττάρων έχει δείξει ότι το μέγεθος των κυττάρων, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και ο ρυθμός πρωτεϊνικής σύνθεσης συσχετίζονται θετικά με τον κυτταρικό όγκο, και ότι τα μεγαλύτερα κύτταρα τείνουν να πολλαπλασιάζονται πιο αργά. Σε συγκριτικές αναλύσεις, τα κύτταρα A549 κατατάσσονται μεταξύ των σχετικά μικρότερων, ταχύτερα πολλαπλασιαζόμενων επιθηλιακών καρκινικών κυτταρικών σειρών, σε αντίθεση με τα μεγαλύτερα, πιο μεσεγχυματικά κύτταρα που παρουσιάζουν υψηλότερη έκφραση βιμεντίνης και χαμηλότερα επίπεδα E-καδερίνης. Αυτές οι μεταβολικές και φαινοτυπικές διαφορές είναι σημαντικές για την ερμηνεία των πειραματικών αποτελεσμάτων, καθώς οι ρυθμοί πρωτεϊνικής σύνθεσης και οι μεταβολικές ροές εξαρτώνται από το μέγεθος των κυττάρων και επηρεάζουν την ευαισθησία σε παράγοντες που στοχεύουν τον πολλαπλασιασμό ή τις αναβολικές οδούς που ρυθμίζονται από το mTOR. Η τροποποίηση με RFP διατηρεί την καταλληλότητα των κυττάρων A549 για τέτοιου είδους μεταβολικές και φαρμακολογικές έρευνες, ενώ παράλληλα επιτρέπει την άμεση οπτικοποίηση. Τα κύτταρα A549-RFP χρησιμοποιούνται ευρέως σε συστήματα συν-καλλιέργειας, ορθοτοπικά και εκτοπικά μοντέλα ξενομοσχεύματος, καθώς και σε δοκιμασίες διήθησης ή μετάστασης, όπου η φθορίζουσα σήμανση διευκολύνει τη διάκριση των καρκινικών κυττάρων από τα συστατικά του στρώματος ή του ξενιστή. Η σταθερή κόκκινη φθορισμός υποστηρίζει εφαρμογές όπως η απεικόνιση ζωντανών κυττάρων, η διαλογή υψηλού περιεχομένου, η ποσοτικοποίηση με βάση την κυτταρομετρία ροής και η οπτική απεικόνιση in vivo. Ως ανιχνεύσιμη παραλλαγή ενός καλά χαρακτηρισμένου μοντέλου αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα, το A549-RFP παρέχει μια ισχυρή πλατφόρμα για τη μελέτη του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάπτωσης, της απόκρισης στα φάρμακα και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ όγκου και μικροπεριβάλλοντος, τόσο σε in vitro όσο και σε in vivo συνθήκες. **Γενετική τροποποίηση:** Σταθερά τροποποιημένο μέσω μεταγωγής με ληντοϊό ανίκανο προς αναπαραγωγή, ώστε να εκφράζει έναν αναφορέα κόκκινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (RFP)· διατηρείται ως πολυκλωνικός πληθυσμός υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Επίπεδο περιορισμού S1/BSL-1.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πνεύμονας
Disease	Αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Product sheet

Κύτταρα A549-RFP | 305659

Χαρακτηριστικά

Age	58 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	A549-RFP (αριθμός καταλόγου Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει έναν σταθερά ενσωματωμένο δείκτη κόκκινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (RFP), ο οποίος εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)
MSI-status	Μετάλλαξη: p.Gly12Ser, ομόζυγη; Μετάλλαξη: p.Gln37Ter, ομόζυγη
Mutational profile	Μετάλλαξη: p.Gly12Ser, ομόζυγη; Μετάλλαξη: p.Gln37Ter, ομόζυγη

Χειρισμός

Κύτταρα A549-RFP | 305659

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), περιέχει: 3,1 g/L γλυκόζη, περιέχει: 2,5 mM L-γλουταμίνη, περιέχει: 15 mM HEPES, περιέχει: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, περιέχει: 1,2 g/L $NaHCO_3$ (κωδικός προϊόντος Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20-40 ώρες
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.

7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Κύτταρα A549-RFP | 305659

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση