

A549-RFP rakud | 305659

Üldine teave

Description

A549-RFP on inimese A549 kopsu adenokartsinoomi rakuliini fluorestsentsmärgistusega derivaat, mis on loodud punase fluorestsentsvalgu (RFP) konstantseks ekspresseerimiseks reaajas visualiseerimiseks ja jälgimiseks. Vanem A549 liin loodi täiskasvanud doonorilt pärit kopsu adenokartsinoomist ja näitab epiteelrakkude koos adhesiivse kasvu omadustega. A549 rakud säilitavad II tüüpi alveolaarsete epiteelirakkude omadused, sealhulgas tsütokeratine ekspressiooni ja surfaktandiga seotud valgu tootmise võime. Stabiilse RFP ekspressioonikasseti kasutuselevõtt võimaldab pidevat fluorestsentsi, muutmata oluliselt vanemliini sisemisi proliferatiivseid ja metaboolseid omadusi, mistõttu A549-RFP sobib pikaajalisteks pildistamisuuringuteks.

A549 rakkude funktsionaalne iseloomustus suurtes vähirakkude paneelides on näidanud, et rakkude suurus, valgusisaldus ja valgusünteesi kiirus on positiivselt korrelatsioonis rakkude mahuga ning et suuremad rakud kalduvad paljunema aeglasemalt. Võrdlevates analüüsides on A549 rakud suhteliselt väiksemate, kiiremini paljunevate epiteelrakkude liinide seas, vastandina suurematele, mesenküümilaadsetele rakkudele, mis näitavad kõrgemate vimentiini ekspressiooni ja madalamate E-kadheriini tasemeid. Need metaboolsed ja fenotüübilised erinevused on olulised eksperimentaalseks tõlgendamiseks, kuna valgusünteesi kiirus ja metaboolsed vood sõltuvad rakkude suurusest ja mõjutavad tundlikkust proliferatsiooni või mTOR-reguleeritud anaboolsete radade suhtes. RFP modifikatsioon säilitab A549 rakkude sobivuse sellisteks metaboolsete ja farmakoloogilisteks uuringuteks, võimaldades samal ajal otsest visualiseerimist.

A549-RFP-d kasutatakse laialdaselt ko-kultuuri süsteemides, ortotopilistes ja ektopilistes ksenotransplantaadi mudelites ning invasiivsuse või metastaaside analüüsides, kus fluorestsentsmärgistus hõlbustab kasvajakarude eristamist strooma- või peremeeskomponentidest. Stabiilne punane fluorestsents toetab rakendusi, sealhulgas elusrakkude pildistamist, kõrge sisaldusega sõelumist, voolutsütomeetria-põhist kvantifitseerimist ja in vivo optilist pildistamist. Hästi iseloomustatud kopsu adenokartsinoomi mudeli jälgitava variandina pakub A549-RFP tugevat platvormi kasvajakarude proliferatsiooni, epiteeli-mesenküümse ülemineku, ravimireaktsiooni ja kasvaja-mikrokeskkonna interaktsioonide uurimiseks nii in vitro kui ka in vivo tingimustes.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kopsu adenokartsinoom

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

Omadused

Age 58 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

A549-RFP rakud | 305659

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation A549-RFP (Cytioni katalooginumber 305659)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0023

GMO Status GMO-S1: See A549 kopsuvähirakkude liin sisaldab lentiviiruslikku RFP konstruktsiooni, mis võimaldab punase fluorestsentsi kujutamist. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression RFP

MSI-status Mutatsioon: p.Gly12Ser, homosügootne; Mutatsioon: p.Gln37Ter, homosügootne

Mutational profile Mutatsioon: p.Gly12Ser, homosügootne; Mutatsioon: p.Gln37Ter, homosügootne

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), sisaldab: 3,1 g/l glükoosi, sisaldab: 2,5 mM L-glutamiini, sisaldab: 15 mM HEPES-i, sisaldab: 0,5 mM naatriumpüruvaati, sisaldab: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion tootenumbr 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20–40 tundi

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

A549-RFP rakud | 305659

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA