Product sheet

A549-RFP rakud | 305659

Üldine teave

Description	A549-RFP on inimese A549 kopsu adenokartsinoomi rakuliini fluorestsentsmärgistatud derivaat, mis on geneetiliselt muundatud punase fluorestsentsvalgu (RFP) pidevaks ekspresseerimiseks, et võimaldada reaalajas visualiseerimist ja jälgimist. Algrakuliin A549 loodi täiskasvanud doonorilt pärit kopsu adenokartsinoomist ning sellel on epiteelne morfoloogia ja adhesiivne kasv. A549-rakud säilitavad II tüüpi alveolaarsete epiteelirakkude omadused, sealhulgas tsütokeratini ekspressiooni ja võime toota pindaktiivse ainega seotud valke. Stabiilse RFP ekspressioonikasseti sisseviimine võimaldab pidevat fluorestsentsi, ilma et see oluliselt muudaks emaliini loomulikke proliferatiivseid ja metaboolseid omadusi, mistõttu on A549-RFP sobiv pikaajalisteks pildistamisuuringuteks. A549-rakkude funktsionaalne iseloomustamine suurtes vähirakkude paneelides on näidanud, et rakkude suurus, valgusisaldus ja valgusünteesi kiirus on positiivselt korrelatsioonis rakkude mahuga ning et suuremad rakud kipuvad paljunema aeglasemalt. Võrdlevates analüüsides kuuluvad A549-rakud suhteliselt väiksemate, kiiremini paljunevate epiteelvähirakuliinide hulka, erinevalt suurematest, mesenküümilaadsetest rakkudest, millel on kõrgem vimentiini ekspressioon ja madalamad E-kadheriini tasemed. Need ainevahetuslikud ja fenotüübilised erinevused on olulised eksperimentide tõlgendamisel, kuna valkude sünteesi kiirused ja ainevahetusvood sõltuvad rakkude suurusest ning mõjutavad tundlikkust ainetele, mis on suunatud proliferatsioonile või mTOR-i reguleeritud anaboolsetele signaalradadele. RFP-modifikatsioon säilitab A549-rakkude sobivuse sellisteks ainevahetuslikeks 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 kasvajarakkude eristamist strooma- või peremeesrakkudest. Stabiilne punane fluorestsents toetab rakendusi, sealhulgas elusrakkude pildistamist, kõrge sisaldusega sõelumist, voolutsütomeetrial põhinevat kvantifitseerimist ja in vivo optilist pildistamist. Hästi iseloomustatud kopsuadenokartsinoomi mudeli jälgitava variandina pakub A549-RFP tugevat platvormi kasvajarakkude proliferatsiooni, epiteel-mesenküümse ülemineku, ravimireaktsiooni ning kasvaja ja mikrokeskkonda vaheliste interaktsioonide uurimiseks nii in vitro kui ka in vivo tingimustes. **Geneetiline modifikatsioon:** stabiilselt modifitseeritud replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni abil punase fluorestsentsvalgu (RFP) reportergeeni ekspresseerimiseks; säilitatakse polükloonilise populatsioonina puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 ohutustase.
Organism	Inimene
Tissue	Kopsud
Disease	Kopsu adenokartsinoom
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Omadused

Age	58 aastat

A549-RFP rakud | 305659

Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	A549-RFP (Cytioni kataloginumber 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud punast fluorestsentsvalku (RFP) reporterit, mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/mL). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (punane fluorestsentsvalk)
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 $NaHCO_3$ (Cytion tootenumber 820400a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga

A549-RFP rakud | 305659

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 tundi
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs