Product sheet

A549-RFP-solut | 305659

Yleisiä tietoja

Description	A549-RFP on ihmisen A549-keuhkojen adenokarsinoomasolulinjan fluoresoivasti merkitty johdannainen, joka on muokattu ilmentämään jatkuvasti punaista fluoresoivaa proteiinia (RFP) reaaliaikaista visualisointia ja seurantaa varten. Alkuperäinen A549-solulinja on peräisin aikuiselta luovuttajalta saadusta keuhkojen adenokarsinoomasta, ja sillä on epiteelimorfologia sekä adheesiiviset kasvun ominaisuudet. A549-solut säilyttävät tyypin II alveolaaristen epiteelisolujen ominaisuudet, mukaan lukien sytokeratiinien ilmentymisen ja kyvyn tuottaa surfaktanttiin liittyviä proteiineja. Stabiilin RFP-ilmentymiskasetin lisääminen mahdollistaa jatkuvan fluoresenssin ilman, että emolinjan luontaisia proliferaatio- ja aineenvaihduntaominaisuuksia muutetaan merkittävästi, minkä ansiosta A549-RFP sopii pitkittäisiin kuvantamistutkimuksiin. A549-solujen toiminnallinen karakterisointi laajoissa syöpäsolupaneeleissa on osoittanut, että solun koko, proteiinipitoisuus ja proteiinisynteesinopeus korreloivat positiivisesti solun tilavuuden kanssa ja että suuremmat solut proliferoituvat yleensä hitaammin. Vertailevissa analyyseissä A549-solut sijoittuvat suhteellisen pienempien, nopeammin lisääntyvien epiteelisyöpäsolulinjojen joukkoon, toisin kuin suuremmat, mesenkymaalisemmat solut, joilla on korkeampi vimentiinin ilmentyminen ja alhaisemmat E-kadheriinipitoisuudet. Nämä metaboliset ja fenotyyppiset erot ovat merkityksellisiä kokeellisten tulosten tulkinnassa, sillä proteiinisynteesinopeudet ja aineenvaihdunnan virrat skaalautuvat solukoon mukaan ja vaikuttavat herkkyyteen aineille, jotka kohdistuvat solujen lisääntymiseen tai mTOR:n säätelemiin anabolisiin reitteihin. RFP-modifikaatio säilyttää A549-solujen sopivuuden tällaisiin metabolisiin ja farmakologisiin tutkimuksiin samalla kun se mahdollistaa suoran visualisoinnin. A549-RFP:tä käytetään laajalti yhteisviljelyjärjestelmissä, ortotopisissa ja ektopisissa ksenotransplantaattimalleissa sekä invaasio- tai metastaasimäärityksissä, joissa fluoresoiva leimaus helpottaa kasvainsolujen erottamista stroma- tai isäntäkudoksen komponenteista. Vakaa punainen fluoresenssi tukee sovelluksia, kuten elävien solujen kuvantamista, high-content-seulontaa, virtaussytometriaan perustuvaa kvantifiointia ja in vivo -optista kuvantamista. Hyvin karakterisoidun keuhkojen adenokarsinoomamallin jäljitettävänä varianttina A549-RFP tarjoaa vankan alustan kasvainsolujen proliferaation, epiteeli-mesenkymaalisuuden siirtymän, lääkevasteen sekä kasvaimen ja mikroympäristön välisten vuorovaikutusten tutkimiseen sekä in vitro- että in vivo -olosuhteissa. **Geneettinen muuntelu:** Vakaasti muunnettu replikaatiokyvytön lentiviruksen välityksellä ilmentämään punaista fluoresoivaa proteiinia (RFP) raportointigeeninä; ylläpidetään polyklonaalisena populaationa puromysiiniselektiossa (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-turvaluokitus.
Organism	Ihminen
Tissue	Keuhkot
Disease	Keuhkojen adenokarsinooma
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Ominaisuudet

Age	58 vuotta

A549-RFP-solut | 305659

Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	A549-RFP (Cytion-tuotenumero 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Tämä solulinja sisältää stabiilisti integroidun punaisen fluoresoivan proteiinin (RFP) raportointigeenin, joka on tuotu soluun replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyylitiedot

Protein expression	tarjouspyyntö
Antigen expression	RFP (punainen fluoresoiva proteiini)
MSI-status	Mutaatio: p.Gly12Ser, homotsygoottinen; Mutaatio: p.Gln37Ter, homotsygoottinen
Mutational profile	Mutaatio: p.Gly12Ser, homotsygoottinen; Mutaatio: p.Gln37Ter, homotsygoottinen

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), pitoisuus: 3,1 g/l glukoosia, pitoisuus: 2,5 mM L-glutamiinia, pitoisuus: 15 mM HEPES:ää, pitoisuus: 0,5 mM natriumpyruvaattia, pitoisuus: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (Cytion-tuotenumero 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

A549-RFP-solut | 305659

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 tuntia
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.
Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti. 7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi