Product sheet

Cellules A549-RFP | 305659

Informations générales

Description	La lignée A549-RFP est un dérivé marqué par fluorescence de la lignée cellulaire humaine A549 d'adénocarcinome pulmonaire, modifiée génétiquement pour exprimer de manière constitutive la protéine fluorescente rouge (RFP) en vue d'une visualisation et d'un suivi en temps réel. La lignée parentale A549 a été établie à partir d'un adénocarcinome pulmonaire provenant d'un donneur adulte et présente une morphologie épithéliale avec des caractéristiques de croissance adhérente. Les cellules A549 conservent les caractéristiques des cellules épithéliales alvéolaires de type II, notamment l'expression des cytokératines et la capacité à produire des protéines associées au surfactant. L'introduction d'une cassette d'expression stable de la RFP permet une fluorescence continue sans altérer de manière significative les propriétés prolifératives et métaboliques intrinsèques de la lignée parentale, ce qui rend la lignée A549-RFP adaptée aux études d'imagerie longitudinales. La caractérisation fonctionnelle des cellules A549 au sein de vastes panels de cellules cancéreuses a démontré que la taille cellulaire, la teneur en protéines et le taux de synthèse protéique sont positivement corrélés au volume cellulaire, et que les cellules plus volumineuses ont tendance à proliférer plus lentement. Dans les analyses comparatives, les cellules A549 se situent parmi les lignées de cellules cancéreuses épithéliales relativement plus petites et à prolifération plus rapide, contrairement aux cellules plus volumineuses, de type plus mésenchymateux, qui présentent une expression plus élevée de la vimentine et des taux plus faibles d'E-cadhérine. Ces distinctions métaboliques et phénotypiques sont pertinentes pour l'interprétation expérimentale, car les taux de synthèse protéique et les flux métaboliques varient en fonction de la taille cellulaire et influencent la sensibilité aux agents ciblant la prolifération ou les voies anaboliques régulées par mTOR. La modification RFP préserve l'adéquation des cellules A549 pour de telles études métaboliques et pharmacologiques tout en permettant une visualisation directe. La lignée A549-RFP est largement utilisée dans les systèmes de co-culture, les modèles de xénogreffes orthotopiques et ectopiques, ainsi que dans les tests d'invasion ou de métastases où le marquage fluorescent facilite la distinction des cellules tumorales des composants stromaux ou de l'hôte. La fluorescence rouge stable permet des applications telles que l'imagerie de cellules vivantes, le criblage à haut contenu, la quantification par cytométrie en flux et l'imagerie optique in vivo. En tant que variante traçable d'un modèle d'adénocarcinome pulmonaire bien caractérisé, A549-RFP offre une plateforme robuste pour l'étude de la prolifération des cellules tumorales, de la transition épithélio-mésenchymateuse, de la réponse aux médicaments et des interactions entre la tumeur et son microenvironnement, tant in vitro qu'in vivo. **Modification génétique :** modifiée de manière stable par transduction lentivirale à réplication incompétente pour exprimer un rapporteur à protéine fluorescente rouge (RFP) ; maintenue sous forme de population polyclonale sous sélection à la puromycine (1–5 µg/mL). Niveau de confinement S1/BSL-1.
Organism	Humain
Tissue	Poumon
Disease	Adénocarcinome pulmonaire
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Caractéristiques

Product sheet

Cellules A549-RFP | 305659

Age	58 ans
Gender	Homme
Ethnicity	Caucasien
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	A549-RFP (numéro de catalogue Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire contient un rapporteur à base de protéine fluorescente rouge (RFP) intégré de manière stable, introduit par transduction lentivirale à réplication incompétente. La population cellulaire polyclonale ainsi obtenue a été maintenue sous sélection à la puromycine (1 à 5 µg/mL). Un confinement de niveau S1 est requis. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	appel d'offres
Antigen expression	RFP (protéine fluorescente rouge)
MSI-status	Mutation : p.Gly12Ser, homozygote ; Mutation : p.Gln37Ter, homozygote
Mutational profile	Mutation : p.Gly12Ser, homozygote ; Mutation : p.Gln37Ter, homozygote

Manipulation

Culture Medium	DMEM : Ham's F12 (1:1), contenant : 3,1 g/L de glucose, 2,5 mM de L-glutamine, 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (référence Cytion 820400a)

Cellules A549-RFP | 305659

Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 à 40 heures
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport. 2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire. 3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace. 4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir. 5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement. 6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation. 7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun

Cellules A549-RFP | 305659

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire