

A549-RFP sejtek | 305659

Általános információk

Description

Az A549-RFP az emberi A549 tüdőadenokarcinoma sejt vonal fluoreszcens jelöléssel ellátott származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy konstitutív módon expresszálja a vörös fluoreszcens fehérjét (RFP) a valós idejű vizualizálás és nyomon követés érdekében. Az A549 szülői vonalat egy felnőtt donortól származó tüdőadenokarcinómából hozták létre, és epiteliális morfológiát mutat, tapadó növekedési jellemzőkkel. Az A549 sejtek megőrzik a II. típusú alveoláris epiteliális sejtek jellemzőit, beleértve a cito-keratinok expresszióját és a felületaktív anyagokkal kapcsolatos fehérje termelési képességét. A stabil RFP expressziós kazetta bevezetése lehetővé teszi a folyamatos fluoreszcenciát anélkül, hogy jelentősen megváltoztatná az anyasejt vonal belső proliferatív és metabolikus tulajdonságait, így az A549-RFP alkalmas longitudinális képalkotó vizsgálatokra.

Az A549 sejtek funkcionális jellemzése nagy ráksejt-paneleken belül kimutatta, hogy a sejt méret, a fehérjetartalom és a fehérjeszintézis sebessége pozitív korrelációban áll a sejt térfogatával, és hogy a nagyobb sejtek általában lassabban proliferálnak. Összehasonlító elemzésekben az A549 sejtek a viszonylag kisebb, gyorsabban proliferáló epiteliális ráksejt vonalak között helyezkednek el, ellentétben a nagyobb, mesenchymálisabb sejtekkel, amelyek magasabb vimentin expressziót és alacsonyabb E-kadherin szintet mutatnak. Ezek a metabolikus és fenotípusbeli különbségek relevánsak a kísérleti értelmezés szempontjából, mivel a fehérjeszintézis sebessége és a metabolikus fluxusok a sejt mérettel arányosan változnak, és befolyásolják az érzékenységet a proliferációt vagy az mTOR által szabályozott anabolikus útvonalakat célzó szerekre. Az RFP-módosítás megőrzi az A549 sejtek alkalmasságát ilyen metabolikus és farmakológiai vizsgálatokra, miközben lehetővé teszi a közvetlen vizualizációt.

Az A549-RFP széles körben használatos ko-kultúra rendszerekben, ortotópos és ektopikus xenotranszplantátum modellekben, valamint inváziós vagy metasztázis vizsgálatokban, ahol a fluoreszcens jelölés megkönnyíti a tumorsejtek megkülönböztetését a stroma vagy a gazdaszervezet komponenseitől. A stabil vörös fluoreszcencia támogatja az élő sejtek képalkotását, a nagy tartalmú szűrést, a flow citometrián alapuló kvantifikációt és az in vivo optikai képalkotást. A jól jellemzett tüdőadenokarcinóma modell nyomon követhető változataként az A549-RFP robusztus platformot biztosít a tumorsejtek proliferációjának, az epiteliális-mesenchimális átalakulásnak, a gyógyszerre adott válaszreakciónak és a tumor-mikrokörnyezet kölcsönhatásainak tanulmányozásához mind in vitro, mind in vivo körülmények között.

Organism Emberi

Tissue Tüdő

Disease Tüdő adenokarcinóma

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

Jellemzők

Age 58 év

Gender Férfi

A549-RFP sejtek | 305659

Ethnicity Kaukázusi**Growth properties** Adherent

Szabályozási adatok

Citation A549-RFP (Cytion katalógusszám: 305659)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0023**GMO Status** GMO-S1: Ez az A549 tüdőrákos sejtvonal egy lentivirális RFP-konstrukciót tartalmaz, amely vörös fluoreszcens képalkotást tesz lehetővé. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression RFP**MSI-status** Mutáció: p.Gly12Ser, homozigóta; Mutáció: p.Gln37Ter, homozigóta**Mutational profile** Mutáció: p.Gly12Ser, homozigóta; Mutáció: p.Gln37Ter, homozigóta

A kezelése

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), tartalmaz: 3,1 g/l glükózt, 2,5 mM L-glutamint, 15 mM HEPES-t, 0,5 mM nátrium-piruvátot, 1,2 g/l NaHCO₃-t (Cytion cikkszám: 820400a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20-40 óra

A549-RFP sejtek | 305659

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA