Product sheet

A549-RFP sejtek | 305659

Általános információk

Description	Az A549-RFP az emberi A549 tüdőadenokarcinóma sejtvonal fluoreszcens jelöléssel ellátott származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy folyamatosan vörös fluoreszcens fehérjét (RFP) fejezzen ki, valós idejű vizualizálás és nyomon követés céljából. Az A549 szülői vonalat egy felnőtt donortól származó tüdőadenokarcinómából állították elő, és epiteliális morfológiát mutat, adhezív növekedési jellemzőkkel. Az A549 sejtek megőrzik a II. típusú alveoláris epiteliális sejtek jellemzőit, beleértve a cito-keratinok expresszióját és a szurfaktánshoz kapcsolódó fehérjék termelésére való képességet. A stabil RFP-expressziós kazetta beépítése folyamatos fluoreszcenciát tesz lehetővé anélkül, hogy jelentősen megváltoztatná az anyavonal sajátos proliferációs és metabolikus tulajdonságait, így az A549-RFP alkalmas longitudinális képalkotó vizsgálatokra. Az A549 sejtek funkcionális jellemzése nagy ráksejt-paneleken belül kimutatta, hogy a sejtméret, a fehérjetartalom és a fehérjeszintézis sebessége pozitív korrelációt mutat a sejt térfogatával, és hogy a nagyobb sejtek általában lassabban szaporodnak. Összehasonlító elemzésekben az A549 sejtek a viszonylag kisebb, gyorsabban proliferáló epiteliális ráksejtvonalak közé sorolhatók, ellentétben a nagyobb, inkább mezenchimális jellegű sejtekkel, amelyek magasabb vimentin-expressziót és alacsonyabb E-kadherin-szintet mutatnak. Ezek az anyagcsere- és fenotípusbeli különbségek relevánsak a kísérleti eredmények értelmezése szempontjából, mivel a fehérjeszintézis sebessége és az anyagcsere-áramlások a sejtmérettel arányosan változnak, és befolyásolják a proliferációt vagy az mTOR által szabályozott anabolikus útvonalakat célzó hatóanyagokkal szembeni érzékenységet. Az RFP-módosítás megőrzi az A549 sejtek alkalmasságát ilyen anyagcsere- és farmakológiai vizsgálatokra, miközben lehetővé teszi a közvetlen vizualizációt. Az A549-RFP-t széles körben használják ko-kultúra-rendszerekben, ortotópos és ektopikus xenotranszplantátum-modellekben, valamint inváziós vagy metasztázis-vizsgálatokban, ahol a fluoreszcens jelölés megkönnyíti a tumorsejtek megkülönböztetését a stromális vagy gazdaszervezeti komponensektől. A stabil vörös fluoreszcencia támogatja az élősejt-képalkotást, a nagy tartalmú szűrést, az áramlási citometrián alapuló mennyiségi meghatározást és az in vivo optikai képalkotást. Egy jól jellemzett tüdőadenokarcinóma-modell nyomon követhető változataként az A549-RFP megbízható platformot biztosít a tumorsejtek proliferációjának, az epiteliális-mezenchimális átalakulásnak, a gyógyszerre adott válasznak, valamint a tumor és a mikrokörnyezet közötti kölcsönhatásoknak az in vitro és in vivo körülmények közötti vizsgálatához. **Genetikai módosítás:** Replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval stabilan módosítva vörös fluoreszcens fehérje (RFP) riporter expressziójára; puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) alatt poliklonális populációként fenntartva. S1/BSL-1 biztonsági besorolás.
Organism	Emberi
Tissue	Tüdő
Disease	Tüdő adenokarcinóma
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Jellemzők

Age	58 év

A549-RFP sejtek | 305659

Gender	Férfi
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 a sejtvonal egy stabilan integrált vörös fluoreszcens fehérje (RFP) riportert tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/ml) alatt tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (vörös fluoreszkáló fehérje)
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 $NaHCO_3$-t (Cytion cikkszám: 820400a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

A549-RFP sejtek | 305659

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20-40 óra
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 °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 °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 kriofülkét 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 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el. 7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °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 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés