

Cellule A549-RFP | 305659

Informazioni generali

Description

A549-RFP è un derivato marcato con fluorescenza della linea cellulare umana A549 di adenocarcinoma polmonare, progettato per esprimere in modo costitutivo la proteina fluorescente rossa (RFP) per la visualizzazione e il tracciamento in tempo reale. La linea parentale A549 è stata creata da un adenocarcinoma polmonare derivato da un donatore adulto e presenta una morfologia epiteliale con caratteristiche di crescita aderente. Le cellule A549 conservano le caratteristiche delle cellule epiteliali alveolari di tipo II, compresa l'espressione delle citocheratine e la capacità di produrre proteine associate al surfattante. L'introduzione di una cassetta di espressione RFP stabile consente una fluorescenza continua senza alterare in modo significativo le proprietà proliferative e metaboliche intrinseche della linea parentale, rendendo A549-RFP adatto per studi di imaging longitudinali.

La caratterizzazione funzionale delle cellule A549 all'interno di grandi pannelli di cellule tumorali ha dimostrato che la dimensione delle cellule, il contenuto proteico e il tasso di sintesi proteica sono correlati positivamente con il volume cellulare e che le cellule più grandi tendono a proliferare più lentamente. Nelle analisi comparative, le cellule A549 si posizionano tra le linee cellulari epiteliali tumorali relativamente più piccole e a proliferazione più rapida, in contrasto con le cellule più grandi e più simili a quelle mesenchimali che mostrano una maggiore espressione di vimentina e livelli più bassi di E-caderina. Queste distinzioni metaboliche e fenotipiche sono rilevanti per l'interpretazione sperimentale, poiché i tassi di sintesi proteica e i flussi metabolici sono proporzionali alle dimensioni delle cellule e influenzano la sensibilità agli agenti che agiscono sulla proliferazione o sui percorsi anabolici regolati da mTOR. La modifica RFP preserva l'idoneità delle cellule A549 per tali indagini metaboliche e farmacologiche, consentendo al contempo la visualizzazione diretta.

A549-RFP è ampiamente utilizzato in sistemi di co-cultura, modelli di xenotrapianto ortotopico ed ectopico e test di invasione o metastasi in cui la marcatura fluorescente facilita la discriminazione delle cellule tumorali dai componenti stromali o dell'ospite. La fluorescenza rossa stabile supporta applicazioni quali imaging di cellule vive, screening ad alto contenuto, quantificazione basata sulla citometria a flusso e imaging ottico in vivo. In quanto variante tracciabile di un modello ben caratterizzato di adenocarcinoma polmonare, A549-RFP fornisce una solida piattaforma per lo studio della proliferazione delle cellule tumorali, della transizione epiteliale-mesenchimale, della risposta ai farmaci e delle interazioni tra tumore e microambiente sia in vitro che in vivo.

Organism Umano

Tissue Polmone

Disease Adenocarcinoma polmonare

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

Caratteristiche

Age 58 anni

Gender Uomo

Cellule A549-RFP | 305659

Ethnicity	Caucasico
------------------	-----------

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	A549-RFP (numero di catalogo Cytion 305659)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0023
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: questa linea di carcinoma polmonare A549 contiene un costrutto lentivirale RFP che consente l'imaging a fluorescenza rossa. Questa classificazione è valida solo in Germania e può differire in altri paesi.
-------------------	--

Dati biomolecolari

Protein expression	RFP
---------------------------	-----

MSI-status	Mutazione: p.Gly12Ser, omozigote; Mutazione: p.Gln37Ter, omozigote
-------------------	--

Mutational profile	Mutazione: p.Gly12Ser, omozigote; Mutazione: p.Gln37Ter, omozigote
---------------------------	--

Manipolazione

Culture Medium	DMEM: F12 di Ham (1:1), contenente: 3,1 g/L di glucosio, 2,5 mM di L-glutamina, 15 mM di HEPES, 0,5 mM di piruvato di sodio, 1,2 g/L di NaHCO ₃ (codice articolo Cytion 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	20-40 ore
----------------------	-----------

Cellule A549-RFP | 305659

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongellamento.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongellamento

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA