Product sheet

Cellule A549-RFP | 305659

Informazioni generali

Description	A549-RFP è un derivato marcato con fluorescenza della linea cellulare umana A549 di adenocarcinoma polmonare, ingegnerizzata per esprimere in modo costitutivo la proteina fluorescente rossa (RFP) ai fini della visualizzazione e del tracciamento in tempo reale. La linea parentale A549 è stata ottenuta da un adenocarcinoma polmonare proveniente 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, tra cui l'espressione delle citocheratine e la capacità di produrre proteine associate al surfattante. L'introduzione di una cassetta di espressione stabile della RFP consente una fluorescenza continua senza alterare in modo significativo le proprietà proliferative e metaboliche intrinseche della linea parentale, rendendo le cellule A549-RFP adatte a studi di imaging longitudinali. La caratterizzazione funzionale delle cellule A549 all'interno di ampi pannelli di cellule tumorali ha dimostrato che le dimensioni cellulari, il contenuto proteico e il tasso di sintesi proteica sono correlati positivamente al volume cellulare e che le cellule più grandi tendono a proliferare più lentamente. Nelle analisi comparative, le cellule A549 si collocano tra le linee cellulari tumorali epiteliali relativamente più piccole e a proliferazione più rapida, in contrasto con le cellule più grandi e di tipo più mesenchimale 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 variano in base alle dimensioni delle cellule e influenzano la sensibilità agli agenti che agiscono sulla proliferazione o sulle vie anaboliche regolate da mTOR. La modifica con RFP mantiene l'idoneità delle cellule A549 per tali indagini metaboliche e farmacologiche, consentendo al contempo la visualizzazione diretta. A549-RFP è ampiamente utilizzata in sistemi di cocultura, modelli di xenotrapianto ortotopici ed ectopici e test di invasione o metastasi, dove la marcatura fluorescente facilita la discriminazione delle cellule tumorali dai componenti stromali o dell'ospite. La fluorescenza rossa stabile supporta applicazioni quali l'imaging su cellule vive, lo screening ad alto contenuto, la quantificazione basata sulla citometria a flusso e l'imaging ottico in vivo. In quanto variante tracciabile di un modello di adenocarcinoma polmonare ben caratterizzato, 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 contesti in vitro che in vivo. **Modifica genetica:** modificato in modo stabile tramite trasduzione lentivirale a replicazione incompetente per esprimere un reporter a proteina fluorescente rossa (RFP); mantenuto come popolazione policlonale sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). Contenimento S1/BSL-1.
Organism	Umano
Tissue	Polmone
Disease	Adenocarcinoma polmonare
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Caratteristiche

Product sheet

Cellule A549-RFP | 305659

Age	58 anni
Gender	Uomo
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 cellulare contiene un reporter a base di proteina fluorescente rossa (RFP) integrato in modo stabile, introdotto tramite trasduzione lentivirale incompetente alla replicazione. La popolazione cellulare policlonale risultante è stata mantenuta sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). È richiesto il contenimento di classe S1. Questa classificazione si applica solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (proteina fluorescente rossa)
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-glutammina, 15 mM di HEPES, 0,5 mM di piruvato di sodio, 1,2 g/L di $NaHCO_3$ (codice articolo Cytion 820400a)

Cellule A549-RFP | 305659

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20-40 ore
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelamento.
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-scongelamento
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, 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 qualità e analisi molecolare