Product sheet

A549-RFP ląstelės | 305659

Bendra informacija

Description	A549-RFP yra fluorescenciniu žymekliu pažymėtas žmogaus A549 plaučių adenokarcinomos ląstelių linijos darinys, genetiškai modifikuotas taip, kad nuolat ekspresuotų raudoną fluorescencinį baltymą (RFP), skirtą vizualizavimui ir sekimui realiuoju laiku. Pirminė A549 linija buvo sukurta iš suaugusio donoro plaučių adenokarcinomos ir pasižymi epiteline morfologija bei adhezyviniu augimu. A549 ląstelės išlaiko II tipo alveolinių epitelio ląstelių savybes, įskaitant citocheratinų ekspresiją ir gebėjimą gaminti su paviršinio aktyvumo medžiaga susijusius baltymus. Įterpiant stabilią RFP ekspresijos kasetę užtikrinamas nuolatinis fluorescencijos švytėjimas, iš esmės nekeičiant pirminės linijos būdingų proliferacijos ir metabolizmo savybių, todėl A549-RFP tinka ilgalaikiams vaizdinimo tyrimams. A549 ląstelių funkcinis apibūdinimas dideliuose vėžio ląstelių rinkiniuose parodė, kad ląstelių dydis, baltymų kiekis ir baltymų sintezės greitis teigiamai koreliuoja su ląstelių tūriu, o didesnės ląstelės paprastai dauginasi lėčiau. Lyginamosiose analizėse A549 ląstelės priskiriamos prie santykinai mažesnių, greičiau besidauginančių epitelinių vėžio ląstelių linijų, priešingai nei didesnės, labiau mezenchiminio tipo ląstelės, kuriose pasireiškia didesnė vimentino ekspresija ir mažesnis E-kadherino kiekis. Šie metaboliniai ir fenotipiniai skirtumai yra svarbūs eksperimentiniams rezultatams interpretuoti, nes baltymų sintezės greitis ir metaboliniai srautai priklauso nuo ląstelių dydžio ir daro įtaką jautrumui medžiagoms, veikiančioms proliferaciją arba mTOR reguliuojamus anabolinius kelius. RFP modifikacija išsaugo A549 ląstelių tinkamumą tokiems metaboliniams ir farmakologiniams tyrimams, tuo pačiu leidžiant jas tiesiogiai stebėti. A549-RFP plačiai naudojamos bendros kultūros sistemose, ortotopiniuose ir ektopiniuose ksenotransplantatų modeliuose bei invazijos ar metastazių tyrimuose, kur fluorescencinis žymėjimas palengvina naviko ląstelių atskyrimą nuo stromos ar šeimininko komponentų. Stabili raudona fluorescencija tinka tokiems taikymams kaip gyvų ląstelių vaizdavimas, didelio turinio atranka, kiekybinis vertinimas, pagrįstas srauto citometrija, ir optinis vaizdavimas in vivo. Kaip atsekamas gerai apibūdinto plaučių adenokarcinomos modelio variantas, A549-RFP suteikia patikimą platformą naviko ląstelių proliferacijos, epitelio-mezenchiminio perėjimo, reakcijos į vaistus ir naviko bei mikroaplinkos sąveikų tyrimams tiek in vitro, tiek in vivo sąlygomis. **Genetinė modifikacija:** stabiliai modifikuota replikacijos nesugebančiu lentivirusiniu transdukavimu, kad ekspresuotų raudonojo fluorescencinio baltymo (RFP) reporterį; išlaikoma kaip poliklonine populiacija, atrinkta puromicino atrankos būdu (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 saugumo lygis.
Organism	Žmogus
Tissue	Plaučiai
Disease	Plaučių adenokarcinoma
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Charakteristikos

Age	58 metai
Gender	Vyras

A549-RFP ląstelės | 305659

Ethnicity	Kaukaziečių
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	A549-RFP (Cytion katalogo numeris 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruotas raudonasis fluorescuojantis baltymas (RFP) – reporteris, įterptas naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (raudonasis fluorescuojantis baltymas)
MSI-status	Mutacija: p.Gly12Ser, homozigotinė; Mutacija: p.Gln37Ter, homozigotinė
Mutational profile	Mutacija: p.Gly12Ser, homozigotinė; Mutacija: p.Gln37Ter, homozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), sudėtyje: 3,1 g/l gliukozės, 2,5 mM L-glutamino, 15 mM HEPES, 0,5 mM natrio piruvato, 1,2 g/l $NaHCO_3$ (Cytion prekės kodas 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A549-RFP ląstelės | 305659

Doubling time	20–40 valandų
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe. 7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė