Product sheet

A549-RFP šūnas | 305659

Vispārīga informācija

Description	A549-RFP ir cilvēka A549 plaušu adenokarcinomas šūnu līnijas fluorescences marķēts atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai pastāvīgi ekspresētu sarkano fluorescējošo proteīnu (RFP), kas nodrošina vizualizāciju un izsekošanu reālajā laikā. Sākotnējā A549 līnija tika izveidota no pieauguša donora plaušu adenokarcinomas un tai piemīt epitēlija morfoloģija ar adhezīvu augšanas raksturojumu. A549 šūnas saglabā II tipa alveolāro epitēlija šūnu pazīmes, tostarp citocheratīnu ekspresiju un spēju ražot ar virsmas aktīvo vielu saistītus proteīnus. Stabilas RFP ekspresijas kasetes ieviešana nodrošina nepārtrauktu fluorescenci, būtiski nemainot sākotnējās līnijas raksturīgās proliferatīvās un metaboliskās īpašības, tādējādi padarot A549-RFP piemērotu gareniskajiem attēlveidošanas pētījumiem. A549 šūnu funkcionālā raksturošana plašos vēža šūnu paneļos ir parādījusi, ka šūnu izmērs, proteīnu saturs un proteīnu sintēzes ātrums ir pozitīvi korelēti ar šūnu tilpumu un ka lielākām šūnām parasti ir lēnāka proliferācija. Salīdzinošās analīzēs A549 šūnas ierindojas starp salīdzinoši mazākām, straujāk proliferējošām epitēlija vēža šūnu līnijām, pretstatā lielākām, vairāk mezenhimālām šūnām, kurām raksturīga augstāka vimentīna ekspresija un zemāks E-kadherīna līmenis. Šīs metaboliskās un fenotipiskās atšķirības ir nozīmīgas eksperimentu interpretācijā, jo proteīnu sintēzes ātrums un metaboliskie plūsmu apjomi ir atkarīgi no šūnu izmēra un ietekmē jutību pret vielām, kas vērstas uz proliferāciju vai mTOR regulētajiem anaboliskajiem ceļiem. RFP modifikācija saglabā A549 šūnu piemērotību šādiem metaboliskajiem un farmakoloģiskajiem pētījumiem, vienlaikus nodrošinot to tiešu vizualizāciju. A549-RFP tiek plaši izmantots kopkultūru sistēmās, ortotopiskos un ektopiskos ksenotransplantātu modeļos, kā arī invāzijas vai metastāžu testos, kur fluorescējošais marķējums atvieglo audzēja šūnu atšķiršanu no stromas vai saimnieka komponentiem. Stabilā sarkanā fluorescences signāla dēļ šīs šūnas ir piemērotas tādām lietojumprogrammām kā dzīvo šūnu attēlveidošana, augstas izšķirtspējas skrīnings, kvantitatīvā analīze, izmantojot plūsmas citometriju, un in vivo optiskā attēlveidošana. Kā izsekojams labi raksturota plaušu adenokarcinomas modeļa variants, A549-RFP nodrošina stabilu platformu audzēja šūnu proliferācijas, epitēlija-mezenhīmas pārejas, reakcijas uz zālēm un audzēja un mikroapvidus mijiedarbības pētīšanai gan in vitro, gan in vivo apstākļos. **Ģenētiskā modifikācija:** stabili modificēts ar replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju, lai ekspresētu sarkano fluorescējošo proteīnu (RFP) reporteru; tiek uzturēts kā poliklonāla populācija puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). S1/BSL-1 drošības līmenis.
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Plaušu adenokarcinoma
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Raksturojums

Age	58 gadi

A549-RFP šūnas | 305659

Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	A549-RFP (Cytion kataloga numurs 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu sarkano fluorescējošo proteīnu (RFP) reporteru, kas ievadīts, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības pakāpe. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (sarkana fluorescējoša olbaltumviela)
MSI-status	Mutācija: p.Gly12Ser, homozigota; Mutācija: p.Gln37Ter, homozigota
Mutational profile	Mutācija: p.Gly12Ser, homozigota; Mutācija: p.Gln37Ter, homozigota

Darbs ar

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), satur: 3,1 g/l glikozes, satur: 2,5 mM L-glutamīna, satur: 15 mM HEPES, satur: 0,5 mM nātrija piruvāta, satur: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (Cytion preces numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS

A549-RFP šūnas | 305659

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 stundas
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet. 7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze