Product sheet

A549-RFP-cellen | 305659

Algemene informatie

Description	A549-RFP is een met fluorescentie gemerkt derivaat van de menselijke A549-longadenocarcinoomcellijn, dat zo is gemodificeerd dat het constitutief rood fluorescerend eiwit (RFP) tot expressie brengt voor realtime visualisatie en tracking. De oorspronkelijke A549-lijn is opgezet uit een longadenocarcinoom afkomstig van een volwassen donor en vertoont een epitheliale morfologie met kenmerken van hechtende groei. A549-cellen behouden kenmerken van type II alveolaire epitheelcellen, waaronder de expressie van cytokeratines en het vermogen tot de productie van surfactant-geassocieerde eiwitten. De introductie van een stabiele RFP-expressiecassette maakt continue fluorescentie mogelijk zonder de intrinsieke proliferatieve en metabolische eigenschappen van de oorspronkelijke lijn significant te veranderen, waardoor A549-RFP geschikt is voor longitudinale beeldvormingsstudies. Functionele karakterisering van A549-cellen binnen grote panelen van kankercellen heeft aangetoond dat celgrootte, eiwitgehalte en eiwitsynthesesnelheid positief gecorreleerd zijn met het celvolume, en dat grotere cellen de neiging hebben om langzamer te prolifereren. In vergelijkende analyses behoren A549-cellen tot de relatief kleinere, sneller prolifererende epitheliale kankercellijnen, in tegenstelling tot grotere, meer mesenchymale cellen die een hogere vimentine-expressie en lagere E-cadherine-niveaus vertonen. Deze metabolische en fenotypische verschillen zijn relevant voor de interpretatie van experimenten, aangezien de eiwitsynthesesnelheid en de metabolische fluxen evenredig zijn met de celgrootte en de gevoeligheid beïnvloeden voor middelen die gericht zijn op proliferatie of door mTOR gereguleerde anabole routes. De RFP-modificatie zorgt ervoor dat A549-cellen geschikt blijven voor dergelijke metabolische en farmacologische onderzoeken, terwijl ze tegelijkertijd direct zichtbaar worden gemaakt. A549-RFP wordt op grote schaal gebruikt in co-cultuursystemen, orthotope en ectope xenotransplantaatmodellen en invasie- of metastase-assays, waarbij fluorescerende markering het onderscheid tussen tumorcellen en stromale of gastheercomponenten vergemakkelijkt. De stabiele rode fluorescentie ondersteunt toepassingen zoals beeldvorming van levende cellen, high-content screening, kwantificering op basis van flowcytometrie en in vivo optische beeldvorming. Als traceerbare variant van een goed gekarakteriseerd longadenocarcinoommodel biedt A549-RFP een robuust platform voor het bestuderen van de proliferatie van tumorcellen, de epitheliaal-mesenchymale overgang, de reactie op geneesmiddelen en interacties tussen de tumor en de micro-omgeving, zowel in vitro als in vivo. **Genetische modificatie:** Stabiel gemodificeerd door replicatie-incompetente lentivirale transductie om een rode fluorescerende proteïne (RFP)-reporter tot expressie te brengen; in stand gehouden als een polyklonale populatie onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-beveiligingsniveau.
Organism	Mens
Tissue	Long
Disease	Longadenocarcinoom
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Kenmerken

A549-RFP-cellen | 305659

Age	58 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	A549-RFP (Cytion-catalogusnummer 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Deze cellijn bevat een stabiel geïntegreerde rode fluorescerende proteïne (RFP)-reporter die is ingebracht via replicatie-incompetente lentivirale transductie. De resulterende polyklonale celpopulatie werd gekweekt onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1-beheersingsniveau is vereist. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (rood fluorescerend eiwit)
MSI-status	Mutatie: p.Gly12Ser, homozygoot; Mutatie: p.Gln37Ter, homozygoot
Mutational profile	Mutatie: p.Gly12Ser, homozygoot; Mutatie: p.Gln37Ter, homozygoot

Omgaan met

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), met: 3,1 g/l glucose, met: 2,5 mM L-glutamine, met: 15 mM HEPES, met: 0,5 mM natriumpyruvaat, met: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (Cytion-artikelnummer 820400a)

A549-RFP-cellen | 305659

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20-40 uur
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse