

A549-RFP-celler | 305659**Generell informasjon****Description**

A549-RFP er et fluorescerende merket derivat av den humane A549 lungeadenokarsinomcellelinjen, konstruert for å konstant uttrykke rødt fluorescerende protein (RFP) for visualisering og sporing i sanntid. Den opprinnelige A549-linjen ble etablert fra et lungeadenokarsinom fra en voksen donor og viser epitelial morfologi med vedheftende vekstegenskaper. A549-celler beholder egenskapene til type II alveolære epitelceller, inkludert uttrykk av cytokeratiner og evnen til å produsere overflateaktive proteiner. Innføringen av en stabil RFP-ekspresjonskassetten muliggjør kontinuerlig fluorescens uten å endre de iboende proliferative og metabolske egenskapene til den opprinnelige linjen i nevneverdig grad, noe som gjør A549-RFP egnet for longitudinale bildediagnostiske studier.

Funksjonell karakterisering av A549-celler i store kreftcellepaneler har vist at cellestørrelse, proteininnhold og proteinsyntesehastighet er positivt korrelert med cellevolum, og at større celler har en tendens til å proliferere langsommere. I komparative analyser er A549-celler plassert blant relativt mindre, raskere prolifererende epitelkreftcellelinjer, i motsetning til større, mer mesenkymale celler som viser høyere vimentinuttrykk og lavere E-kadherinnivåer. Disse metabolske og fenotypiske forskjellene er relevante for eksperimentell tolkning, da proteinsyntesehastigheter og metabolske strømmer skaleres med cellestørrelse og påvirker følsomheten for midler som retter seg mot proliferasjon eller mTOR-regulerte anabole veier. RFP-modifiseringen bevarer A549-cellers egnethet for slike metabolske og farmakologiske undersøkelser, samtidig som den muliggjør direkte visualisering.

A549-RFP er mye brukt i samdyrkningsystemer, ortotopiske og ektopiske xenotransplantasjonsmodeller og invasjon- eller metastaseassayer der fluorescerende merking letter skillet mellom tumorceller og stromale eller vertskomponenter. Den stabile røde fluorescensen støtter anvendelser som live-cell imaging, high-content screening, flowcytometri-basert kvantifisering og in vivo optisk imaging. Som en sporbar variant av en velkarakterisert lungeadenokarsinom-modell, gir A549-RFP en robust plattform for å studere tumorcelleproliferasjon, epitel-mesenkymalt overgang, medikamentrespons og interaksjoner mellom tumor og mikromiljø både in vitro og in vivo.

Organism Menneskelig**Tissue** Lunge**Disease** Adenokarsinom i lungene**Synonyms** A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549**Kjennetegn****Age** 58 år**Gender** Mann**Ethnicity** Kaukasisk

A549-RFP-celler | 305659

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data**Citation** A549-RFP (Cytion katalognummer 305659)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0023**GMO Status** GMO-S1: Denne A549-lungekreftlinjen inneholder en lentiviral RFP-konstruksjon som muliggjør rød fluorescensavbildning. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** RFP**MSI-status** Mutasjon: p.Gly12Ser, homozygot; Mutasjon: p.Gln37Ter, homozygot**Mutational profile** Mutasjon: p.Gly12Ser, homozygot; Mutasjon: p.Gln37Ter, homozygot**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), med: 3,1 g/l glukose, med: 2,5 mM L-glutamin, med: 15 mM HEPES, med: 0,5 mM natriumpyruvat, med: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion varenummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20–40 timer**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.

A549-RFP-celler | 305659

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $200 \times g$ i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lagring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA