Product sheet

A549-RFP-celler | 305659

Generell informasjon

Description	A549-RFP er et fluorescensmerket derivat av den humane A549-cellelinjen for lungeadenokarsinom, som er genetisk modifisert til å uttrykke rødt fluorescerende protein (RFP) kontinuerlig for visualisering og sporing i sanntid. Den opprinnelige A549-linjen ble etablert fra et lungeadenokarsinom hentet fra en voksen donor og viser epitelial morfologi med vedheftende vekstegenskaper. A549-celler beholder egenskaper fra type II-alveolære epitelceller, inkludert uttrykk for cytokeratiner og evnen til å produsere overflateaktive proteiner. Innføringen av en stabil RFP-ekspresjonskassett 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 longitudinelle bildediagnostiske studier. Funksjonell karakterisering av A549-celler innenfor 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 sammenlignende analyser plasseres A549-celler blant relativt mindre, raskere prolifererende epiteliale kreftcellelinjer, i motsetning til større, mer mesenkymlignende celler som viser høyere vimentinuttrykk og lavere E-kadherinnivåer. Disse metabolske og fenotypiske forskjellene er relevante for eksperimentell tolkning, ettersom proteinsyntesehastigheter og metabolske strømninger varierer med cellestørrelsen og påvirker følsomheten overfor midler som retter seg mot proliferasjon eller mTOR-regulerte anabolske signalveier. RFP-modifikasjonen bevarer A549-cellers egnethet for slike metabolske og farmakologiske undersøkelser, samtidig som den muliggjør direkte visualisering. A549-RFP brukes mye i samdyrkningssystemer, ortotopiske og ektopiske xenotransplantasjonsmodeller samt invasjons- eller metastasetester der fluorescerende merking gjør det lettere å skille tumorceller fra stromale eller vertskomponenter. Den stabile røde fluorescensen støtter anvendelser som blant annet avbildning av levende celler, high-content-screening, kvantifisering basert på strømningscytometri og optisk avbildning in vivo. Som en sporbart variant av en velkarakterisert lungeadenokarsinom-modell gir A549-RFP en robust plattform for å studere tumorcelleproliferasjon, epitel-mesenkymal overgang, legemiddelrespons og interaksjoner mellom tumor og mikromiljø både in vitro og in vivo. **Genetisk modifisering:** Stabilt modifisert ved replikasjonsinkompetent lentiviral transduksjon for å uttrykke et rødt fluorescerende protein (RFP) som reporter; opprettholdes som en polyklonal populasjon under puromycin-seleksjon (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-inneslutning.
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

A549-RFP-celler | 305659

Ethnicity	Kaukasisk
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 cellelinjen inneholder et stabilt integrert rødt fluorescerende protein (RFP) som reportergen, innført ved hjelp av replikasjonsinkompetent lentiviral transduksjon. Den resulterende polyklonale cellepopulasjonen ble opprettholdt under puromycin-seleksjon (1–5 µg/mL). S1-sikkerhetsnivå er påkrevd. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan avvike andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (rødt fluorescerende protein)
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 $NaHCO_3$ (Cytion varenummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A549-RFP-celler | 305659

Doubling time	20–40 timer
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.
Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst 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 °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 °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 x g i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig. 7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse