Product sheet

Komórki A549-RFP | 305659

Informacje ogólne

Description	A549-RFP to znakowana fluorescencyjnie pochodna ludzkiej linii komórkowej A549 pochodzącej z gruczolakoraka płuca, zmodyfikowana genetycznie w celu stałej ekspresji czerwonego białka fluorescencyjnego (RFP) w celu wizualizacji i śledzenia w czasie rzeczywistym. Pierwotna linia A549 została wyhodowana z gruczolakoraka płuca pochodzącego od dorosłego dawcy i wykazuje morfologię nabłonkową oraz cechy wzrostu adhezyjnego. Komórki A549 zachowują cechy komórek nabłonka pęcherzykowego typu II, w tym ekspresję cytokeratyn oraz zdolność do produkcji białek związanych z surfaktantem. Wprowadzenie stabilnej kasety ekspresyjnej RFP umożliwia ciągłą fluorescencję bez znaczącego zmieniania wewnętrznych właściwości proliferacyjnych i metabolicznych linii macierzystej, dzięki czemu linia A549-RFP nadaje się do badań obrazowania podłużnego. Charakterystyka funkcjonalna komórek A549 w ramach dużych paneli komórek nowotworowych wykazała, że wielkość komórki, zawartość białka oraz tempo syntezy białek są dodatnio skorelowane z objętością komórki, a większe komórki mają tendencję do wolniejszej proliferacji. W analizach porównawczych komórki A549 zaliczane są do stosunkowo mniejszych, szybciej proliferujących linii komórek nowotworowych nabłonkowych, w przeciwieństwie do większych komórek o charakterze bardziej mezenchymalnym, które wykazują wyższą ekspresję wimentyny i niższy poziom E-kadheryny. Te różnice metaboliczne i fenotypowe mają znaczenie dla interpretacji wyników eksperymentalnych, ponieważ tempo syntezy białek i strumienie metaboliczne są proporcjonalne do wielkości komórek i wpływają na wrażliwość na czynniki ukierunkowane na proliferację lub szlaki anaboliczne regulowane przez mTOR. Modyfikacja RFP pozwala zachować przydatność komórek A549 do takich badań metabolicznych i farmakologicznych, umożliwiając jednocześnie bezpośrednią wizualizację. Komórki A549-RFP są szeroko stosowane w systemach współhodowli, modelach ortotopowych i ektopowych przeszczepów heterogenicznych oraz w testach inwazji lub przerzutów, gdzie znakowanie fluorescencyjne ułatwia odróżnienie komórek nowotworowych od elementów zrębu lub gospodarza. Stabilna czerwona fluorescencja umożliwia zastosowania, w tym obrazowanie żywych komórek, przesiewanie o wysokiej zawartości, kwantyfikację opartą na cytometrii przepływowej oraz obrazowanie optyczne in vivo. Jako identyfikowalny wariant dobrze scharakteryzowanego modelu gruczolakoraka płuca, A549-RFP stanowi solidną platformę do badania proliferacji komórek nowotworowych, przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego, odpowiedzi na leki oraz interakcji między nowotworem a mikrośrodowiskiem zarówno w warunkach in vitro, jak i in vivo. **Modyfikacja genetyczna:** Stabilnie zmodyfikowany poprzez transdukcję lentiwirusową bez zdolności do replikacji w celu ekspresji reporterowego białka fluorescencyjnego o czerwonej barwie (RFP); utrzymywany jako populacja poliklonalna pod selekcją puromycyną (1–5 µg/mL). Poziom bezpieczeństwa S1/BSL-1.
Organism	Człowiek
Tissue	Płuco
Disease	Gruczolakorak płuc
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Charakterystyka

Komórki A549-RFP | 305659

Age	58 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	A549-RFP (numer katalogowy Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowany reporter w postaci czerwonego białka fluorescencyjnego (RFP), wprowadzony za pomocą transdukcji lentiwirusowej bez zdolności do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	zapytanie ofertowe
Antigen expression	RFP (czerwone białko fluorescencyjne)
MSI-status	Mutacja: p.Gly12Ser, homozygotyczna; Mutacja: p.Gln37Ter, homozygotyczna
Mutational profile	Mutacja: p.Gly12Ser, homozygotyczna; Mutacja: p.Gln37Ter, homozygotyczna

Obsługa

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), stężenie: 3,1 g/l glukozy, stężenie: 2,5 mM L-glutaminy, stężenie: 15 mM HEPES, stężenie: 0,5 mM pirogronianu sodu, stężenie: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (numer katalogowy Cytion 820400a)

Komórki A549-RFP | 305659

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 godzin
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak

Komórki A549-RFP | 305659

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna