Product sheet

Células A549-RFP | 305659

Informações gerais

Description	A549-RFP é um derivado marcado com fluorescência da linha celular humana A549 de adenocarcinoma pulmonar, modificada geneticamente para expressar de forma constitutiva a proteína fluorescente vermelha (RFP), com vista à visualização e rastreio em tempo real. A linha parental A549 foi estabelecida a partir de um adenocarcinoma pulmonar proveniente de um dador adulto e apresenta morfologia epitelial com características de crescimento aderente. As células A549 mantêm características das células epiteliais alveolares do tipo II, incluindo a expressão de citoqueratinas e a capacidade de produzir proteínas associadas ao surfactante. A introdução de uma cassete de expressão estável de RFP permite uma fluorescência contínua sem alterar significativamente as propriedades proliferativas e metabólicas intrínsecas da linha parental, tornando a A549-RFP adequada para estudos de imagiologia longitudinais. A caracterização funcional das células A549 no âmbito de grandes painéis de células cancerosas demonstrou que o tamanho celular, o teor de proteínas e a taxa de síntese proteica estão positivamente correlacionados com o volume celular, e que as células maiores tendem a proliferar mais lentamente. Em análises comparativas, as células A549 situam-se entre as linhas celulares epiteliais cancerosas relativamente mais pequenas e de proliferação mais rápida, em contraste com células maiores e de caráter mais mesenquimal, que apresentam maior expressão de vimentina e níveis mais baixos de E-caderina. Estas distinções metabólicas e fenotípicas são relevantes para a interpretação experimental, uma vez que as taxas de síntese proteica e os fluxos metabólicos variam em função do tamanho celular e influenciam a sensibilidade a agentes que têm como alvo a proliferação ou as vias anabólicas reguladas pelo mTOR. A modificação com RFP preserva a adequação das células A549 para tais investigações metabólicas e farmacológicas, permitindo simultaneamente a visualização direta. As células A549-RFP são amplamente utilizadas em sistemas de cocultura, modelos de xenoenxertos ortotópicos e ectópicos e ensaios de invasão ou metástase, nos quais a marcação fluorescente facilita a discriminação das células tumorais dos componentes estromais ou do hospedeiro. A fluorescência vermelha estável permite aplicações que incluem imagiologia de células vivas, triagem de alto conteúdo, quantificação baseada em citometria de fluxo e imagiologia ótica in vivo. Como variante rastreável de um modelo de adenocarcinoma pulmonar bem caracterizado, o A549-RFP proporciona uma plataforma robusta para o estudo da proliferação de células tumorais, da transição epitelial-mesenquimal, da resposta a fármacos e das interações entre o tumor e o microambiente, tanto em contextos in vitro como in vivo. **Modificação genética:** Modificado de forma estável por transdução lentiviral incompetente para replicação, de modo a expressar um repórter de proteína fluorescente vermelha (RFP); mantido como uma população policlonal sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). Contenção S1/BSL-1.
Organism	Humano
Tissue	Pulmão
Disease	Adenocarcinoma do pulmão
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Caraterísticas

Células A549-RFP | 305659

Age	58 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	A549-RFP (número de catálogo Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular contém um repórter de proteína fluorescente vermelha (RFP) integrado de forma estável, introduzido através de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (proteína fluorescente vermelha)
MSI-status	Mutação: p.Gly12Ser, homozigótica; Mutação: p.Gln37Ter, homozigótica
Mutational profile	Mutação: p.Gly12Ser, homozigótica; Mutação: p.Gln37Ter, homozigótica

Manuseamento

Culture Medium	DMEM:F12 de Ham (1:1), contendo: 3,1 g/L de glicose, 2,5 mM de L-glutamina, 15 mM de HEPES, 0,5 mM de piruvato de sódio, 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion 820400a)

Células A549-RFP | 305659

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20-40 horas
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 200 x g durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

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

Células A549-RFP | 305659

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular