

Celule A549-RFP | 305659

Informații generale

Description

A549-RFP este un derivat marcat fluorescent al liniei celulare umane A549 de adenocarcinom pulmonar, proiectat pentru a exprima în mod constitutiv proteina fluorescentă roșie (RFP) pentru vizualizare și urmărire în timp real. Linia parentală A549 a fost stabilită dintr-un adenocarcinom pulmonar provenit de la un donator adult și prezintă morfologie epitelială cu caracteristici de creștere aderentă. Celulele A549 păstrează caracteristicile celulelor epiteliale alveolare de tip II, inclusiv expresia citocheratinelor și capacitatea de producere a proteinelor asociate cu surfactantul. Introducerea unei casete de expresie RFP stabile permite fluorescența continuă fără a altera în mod semnificativ proprietățile proliferative și metabolice intrinseci ale liniei parentale, făcând A549-RFP adecvat pentru studii de imagistică longitudinală.

Caracterizarea funcțională a celulelor A549 în cadrul unor panouri mari de celule canceroase a demonstrat că dimensiunea celulelor, conținutul de proteine și rata de sinteză a proteinelor sunt corelate pozitiv cu volumul celulelor și că celulele mai mari tind să prolifereze mai lent. În analizele comparative, celulele A549 se situează printre liniile celulare canceroase epiteliale relativ mai mici și cu proliferare mai rapidă, în contrast cu celulele mai mari, mai asemănătoare cu cele mezenchimale, care prezintă o expresie mai mare a vimentinei și niveluri mai scăzute de E-caderină. Aceste distincții metabolice și fenotipice sunt relevante pentru interpretarea experimentală, deoarece ratele de sinteză a proteinelor și fluxurile metabolice variază în funcție de dimensiunea celulelor și influențează sensibilitatea la agenții care vizează proliferarea sau căile anabolice reglate de mTOR. Modificarea RFP păstrează adecvarea celulelor A549 pentru astfel de investigații metabolice și farmacologice, permițând în același timp vizualizarea directă.

A549-RFP este utilizat pe scară largă în sisteme de co-cultură, modele ortotopice și ectopice de xenotransplant și teste de invazie sau metastază, în care marcarea fluorescentă facilitează discriminarea celulelor tumorale de componentele stromale sau gazdă. Fluorescența roșie stabilă susține aplicații precum imagistica celulelor vii, screeningul cu conținut ridicat, cuantificarea bazată pe citometrie în flux și imagistica optică in vivo. Ca variantă trasabilă a unui model bine caracterizat de adenocarcinom pulmonar, A549-RFP oferă o platformă robustă pentru studierea proliferării celulelor tumorale, tranziției epiteliale-mezenchimale, răspunsului la medicamente și interacțiunilor dintre tumoră și micromediul în ambele contexte, in vitro și in vivo.

Organism Om

Tissue Plămân

Disease Adenocarcinom pulmonar

Synonyms A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Caracteristici

Age 58 de ani

Gender Masculin

Ethnicity Caucazian

Celule A549-RFP | 305659

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation A549-RFP (număr de catalog Cytion 305659)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0023

GMO Status GMO-S1: Această linie de carcinom pulmonar A549 conține o construcție lentivirală RFP care permite imagistica cu fluorescență roșie. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Protein expression RFP

MSI-status Mutație: p.Gly12Ser, homozigotă; Mutație: p.Gln37Ter, homozigotă

Mutational profile Mutație: p.Gly12Ser, homozigotă; Mutație: p.Gln37Ter, homozigotă

Manipulare

Culture Medium DMEM: Ham's F12 (1:1), conținând: 3,1 g/l glucoză, 2,5 mM L-glutamină, 15 mM HEPES, 0,5 mM piruvat de sodiu, 1,2 g/l NaHCO₃ (număr de articol Cytion 820400a)

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20-40 ore

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare.

Celule A549-RFP | 305659

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA