Product sheet

A549-RFP-celler | 305659

Allmän information

Description	A549-RFP är ett fluorescensmärkt derivat av den humana A549-cellinjen för lungadenokarcinom, som har modifierats för att konstant uttrycka rött fluorescerande protein (RFP) för visualisering och spårning i realtid. Den ursprungliga A549-cellinjen etablerades från ett lungadenokarcinom som härrör från en vuxen donator och uppvisar epitelial morfologi med egenskaper för adherent tillväxt. A549-celler behåller egenskaper hos alveolära epitelceller av typ II, inklusive uttryck av cytokeratiner och förmågan att producera surfaktantassocierade proteiner. Införandet av en stabil RFP-expressionskassett möjliggör kontinuerlig fluorescens utan att den ursprungliga cellinjen förändras väsentligt vad gäller sina inneboende proliferativa och metaboliska egenskaper, vilket gör A549-RFP lämplig för longitudinella avbildningsstudier. Funktionell karakterisering av A549-celler inom stora cancercellpaneler har visat att cellstorlek, proteininnehåll och proteinsynteshastighet är positivt korrelerade med cellvolym, och att större celler tenderar att proliferera långsammare. I jämförande analyser placeras A549-celler bland relativt mindre, snabbare prolifererande epiteliala cancercellinjer, till skillnad från större, mer mesenkymliknande celler som uppvisar högre vimentinuttryck och lägre E-kadherinnivåer. Dessa metaboliska och fenotypiska skillnader är relevanta för tolkningen av experimentresultaten, eftersom proteinsynteshastigheter och metaboliska flöden är proportionella mot cellstorleken och påverkar känsligheten för substanser som riktar sig mot cellförökning eller mTOR-reglerade anabola signalvägar. RFP-modifieringen bevarar A549-cellernas lämplighet för sådana metaboliska och farmakologiska undersökningar samtidigt som den möjliggör direkt visualisering. A549-RFP används i stor utsträckning i samodlingssystem, ortotopiska och ektopiska xenotransplantatmodeller samt i invasions- eller metastasanalyser där fluorescerande märkning underlättar åtskillnaden mellan tumörceller och stromala eller värdkomponenter. Den stabila röda fluorescensen möjliggör tillämpningar som avbildning av levande celler, high-content-screening, kvantifiering med flödescytometri samt optisk avbildning in vivo. Som en spårbar variant av en välkarakteriserad modell för lungadenokarcinom utgör A549-RFP en robust plattform för att studera tumörcellsproliferation, epitel-mesenkym-övergång, läkemedelsrespons samt interaktioner mellan tumör och mikromiljö, både in vitro och in vivo. **Genetisk modifiering:** Stabilt modifierad genom replikationsinkompetent lentiviral transduktion för att uttrycka en reporter av rött fluorescerande protein (RFP); upprätthålls som en polyklonal population under puromycinselektion (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-säkerhetsklass.
Organism	Människan
Tissue	Lungan
Disease	Adenokarcinom i lungan
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Egenskaper

Age	58 år
Gender	Man

A549-RFP-celler | 305659

Ethnicity	Kaukasisk
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	A549-RFP (Cytion-katalognummer 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Denna cellinje innehåller ett stabilt integrerat rött fluorescerande protein (RFP) som införts via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterande polyklonala cellpopulationen odlades under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-säkerhetsklass krävs. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (rött fluorescerande protein)
MSI-status	Mutation: p.Gly12Ser, homozygot; Mutation: p.Gln37Ter, homozygot
Mutational profile	Mutation: p.Gly12Ser, homozygot; Mutation: p.Gln37Ter, homozygot

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), innehåll: 3,1 g/l glukos, innehåll: 2,5 mM L-glutamin, innehåll: 15 mM HEPES, innehåll: 0,5 mM natriumpyruvat, innehåll: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A549-RFP-celler | 305659

Doubling time	20–40 timmar
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 200 x g i 5 minuter och kassera försiktigt supernatanten som innehåller frysmedium. 7. Följ den procedur som beskrivs under Post-Thaw Recovery
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys