Product sheet

Bunky A549-RFP | 305659

Všeobecné informácie

Description	A549-RFP je fluorescenčne značený derivát ľudskej bunkovej línie A549 z pľúcneho adenokarcinómu, geneticky upravený tak, aby konštitutívne exprimoval červený fluorescenčný proteín (RFP) na účely vizualizácie a sledovania v reálnom čase. Pôvodná bunka A549 bola izolovaná z adenokarcinómu pľúc od dospelého darcu a vykazuje epiteliálnu morfológiu s charakteristikami adhezívneho rastu. Bunky A549 si zachovávajú vlastnosti alveolárnych epiteliálnych buniek typu II, vrátane expresie cytokeratínov a schopnosti produkovať proteíny spojené so surfaktantom. Zavedenie kazety so stabilnou expresiou RFP umožňuje nepretržitú fluorescenciu bez výraznej zmeny vnútorných proliferačných a metabolických vlastností pôvodnej línie, vďaka čomu je A549-RFP vhodná pre longitudinálne zobrazovacie štúdie. Funkčná charakterizácia buniek A549 v rámci rozsiahlych panelov rakovinových buniek preukázala, že veľkosť buniek, obsah bielkovín a rýchlosť syntézy bielkovín pozitívne korelujú s objemom buniek a že väčšie bunky majú tendenciu proliferovať pomalšie. V porovnávacích analýzach sa bunky A549 zaraďujú medzi relatívne menšie, rýchlejšie sa proliferujúce epiteliálne onkologické bunkové línie, na rozdiel od väčších, viac mezenchýmovo podobných buniek, ktoré vykazujú vyššiu expresiu vimentínu a nižšie hladiny E-kadherínu. Tieto metabolické a fenotypové rozdiely sú relevantné pre experimentálnu interpretáciu, keďže rýchlosti syntézy bielkovín a metabolické toky sa menia v závislosti od veľkosti buniek a ovplyvňujú citlivosť na látky zamerané na proliferáciu alebo na anabolické dráhy regulované mTOR. Modifikácia RFP zachováva vhodnosť buniek A549 pre takéto metabolické a farmakologické skúmania a zároveň umožňuje ich priamu vizualizáciu. A549-RFP sa široko používa v systémoch kokultivácie, ortotopických a ektopických xenotransplantačných modeloch a v testoch invázie alebo metastázovania, kde fluorescenčné značenie uľahčuje rozlíšenie nádorových buniek od stromálnych alebo hostiteľských zložiek. Stála červená fluorescencia podporuje aplikácie vrátane zobrazovania živých buniek, skríningu s vysokým obsahom, kvantifikácie založenej na prietokovej cytometrii a optického zobrazovania in vivo. Ako vysledovateľná varianta dobre charakterizovaného modelu adenokarcinómu pľúc poskytuje A549-RFP robustnú platformu na štúdium proliferácie nádorových buniek, epiteliálno-mezenchýmovej transformácie, reakcie na lieky a interakcií medzi nádorom a mikroprostredím v podmienkach in vitro aj in vivo. **Genetická modifikácia:** Stabilne modifikovaný replikačne nekompetentnou lentivírusovou transdukciou na expresiu reportéra červeného fluorescenčného proteínu (RFP); udržiavaný ako polyklonálna populácia pod selekciou puromycínom (1–5 µg/mL). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.
Organism	Ľudské
Tissue	Pľúca
Disease	Adenokarcinóm pľúc
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Charakteristika

Age	58 rokov

Bunky A549-RFP | 305659

Gender	Muži
Ethnicity	Kaukazský
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	A549-RFP (číslo katalógu Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Táto bunková línia obsahuje stabilne integrovaný reportér v podobe červeného fluorescenčného proteínu (RFP), ktorý bol zavedený prostredníctvom lentivírusovej transdukcie bez schopnosti replikácie. Výsledná polyklonálna bunková populácia bola udržiavaná pod selekciou puromycínom (1–5 µg/ml). Je vyžadované bezpečnostné opatrenie triedy S1. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (červený fluorescenčný proteín)
MSI-status	Mutácia: p.Gly12Ser, homozygotná; Mutácia: p.Gln37Ter, homozygotná
Mutational profile	Mutácia: p.Gly12Ser, homozygotná; Mutácia: p.Gln37Ter, homozygotná

Spracovanie

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), obsah: 3,1 g/l glukózy, obsah: 2,5 mM L-glutamínu, obsah: 15 mM HEPES, obsah: 0,5 mM pyruvátu sodného, obsah: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS

Bunky A549-RFP | 305659

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 hodín
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.
Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte. 7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza