Product sheet

A549-RFP celice | 305659

Splošne informacije

Description	A549-RFP je fluorescenčno označen derivat človeške celične linije A549 pljučnega adenokarcinoma, ki je bil genetsko spremenjen tako, da konstantno izraža rdeči fluorescenčni protein (RFP) za vizualizacijo in sledenje v realnem času. Izvorna linija A549 je bila vzpostavljena iz pljučnega adenokarcinoma, pridobljenega od odraslega darovalca, in kaže epitelijsko morfologijo z značilnostmi adhezivne rasti. Celice A549 ohranjajo značilnosti alveolarnih epitelijskih celic tipa II, vključno z izražanjem citocheratinov in zmožnostjo proizvodnje proteinov, povezanih s surfaktantom. Vnos kasete za stabilno izražanje RFP omogoča neprekinjeno fluorescenco, ne da bi bistveno spremenil notranje proliferativne in presnovne lastnosti izvorne linije, zaradi česar je A549-RFP primeren za longitudinalne študije slikanja. Funkcionalna karakterizacija celic A549 v okviru obsežnih panelov rakavih celic je pokazala, da so velikost celic, vsebnost beljakovin in hitrost sinteze beljakovin pozitivno korelirane s prostornino celic ter da se večje celice ponavadi razmnožujejo počasneje. V primerjalnih analizah se celice A549 uvrščajo med relativno manjše, hitreje proliferirajoče epitelne rakave celične linije, v nasprotju z večjimi, bolj mezenhimalno podobnimi celicami, ki kažejo višjo ekspresijo vimentina in nižje ravni E-kadherina. Te presnovne in fenotipne razlike so pomembne za eksperimentalno interpretacijo, saj se hitrosti sinteze beljakovin in presnovni tokovi prilagajajo velikosti celic ter vplivajo na občutljivost na snovi, usmerjene v proliferacijo ali mTOR-regulirane anabolične poti. Modifikacija z RFP ohranja primernost celic A549 za takšne presnovne in farmakološke raziskave, hkrati pa omogoča neposredno vizualizacijo. A549-RFP se široko uporablja v sistemih sobivanja kultur, ortotopskih in ektopskih modelih ksenotransplantatov ter v testih invazije ali metastaziranja, kjer fluorescenčno označevanje olajša razlikovanje tumorskih celic od stromalnih ali gostiteljskih komponent. Stabilna rdeča fluorescenca omogoča uporabo v aplikacijah, kot so slikanje živih celic, presejanje z visoko vsebnostjo, kvantifikacija na podlagi pretočne citometrije in optično slikanje in vivo. Kot sledljiva različica dobro opredeljenega modela pljučnega adenokarcinoma A549-RFP zagotavlja robustno platformo za preučevanje proliferacije tumorskih celic, epitelno-mezenhimalne preobrazbe, odziva na zdravila ter interakcij med tumorjem in mikrookoljem tako v in vitro kot v in vivo pogojih. **Genetska modifikacija:** Stabilno modificiran z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo za izražanje poročevalca rdečega fluorescenčnega proteina (RFP); vzdrževan kot poliklonalna populacija pod selekcijo s puromicinom (1–5 µg/mL). Varnostna stopnja S1/BSL-1.
Organism	Človek
Tissue	Pljuča
Disease	Pljučni adenokarcinom
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Značilnosti

Age	58 let
Gender	Moški

A549-RFP celice | 305659

Ethnicity	Kavkaški
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	A549-RFP (številka kataloga Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeni rdeči fluorescenčni protein (RFP) kot reporter, ki je bil vnesen z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna populacija celic je bila vzdrževana pod selekcijo s puromicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression	RFP
Antigen expression	RFP (rdeči fluorescenčni protein)
MSI-status	Mutacija: p.Gly12Ser, homozigotna; Mutacija: p.Gln37Ter, homozigotna
Mutational profile	Mutacija: p.Gly12Ser, homozigotna; Mutacija: p.Gln37Ter, homozigotna

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), vsebnost: 3,1 g/l glukoze, vsebnost: 2,5 mM L-glutamina, vsebnost: 15 mM HEPES, vsebnost: 0,5 mM natrijevega piruvata, vsebnost: 1,2 g/l $NaHCO_3$ (številka izdelka Cytion 820400a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A549-RFP celice | 305659

Doubling time	20–40 ur
Freeze medium	Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.
Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 200 x g 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavrzite. 7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza