

A549-RFP celice | 305659**Splošne informacije****Description**

A549-RFP je fluorescenčno označen derivat človeške celične linije A549 pljučnega adenokarcinoma, ki je bil genetsko spremenjen, da konstitutivno 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 epitelno morfolgijo z adhezivnimi rastnimi lastnostmi. Celice A549 ohranjajo značilnosti alveolnih epitelnih celic tipa II, vključno z izražanjem citocheratinov in sposobnostjo proizvodnje proteinov, povezanih s površinsko aktivno snovjo. Uvedba stabilnega kasete za izražanje RFP omogoča neprekinjeno fluorescenco brez bistvenega spreminjanja notranjih proliferativnih in metabolnih lastnosti izvorne linije, zaradi česar je A549-RFP primeren za longitudinalne študije slikanja.

Funkcionalna karakterizacija celic A549 v velikih panelih rakavih celic je pokazala, da so velikost celic, vsebnost beljakovin in hitrost sinteze beljakovin pozitivno korelirane s celičnim volumnom in da se večje celice ponavadi razmnožujejo počasneje. V primerjalnih analizah so celice A549 uvrščene med relativno manjše, hitreje razmnožujoče se epitelne rakave celične linije, v nasprotju z večjimi, bolj mezenhimalnim podobnimi celicami, ki kažejo višjo ekspresijo vimentina in nižje ravni E-kadherina. Te presnovne in fenotipske razlike so pomembne za eksperimentalno interpretacijo, saj se hitrost sinteze beljakovin in presnovni tokovi prilagajajo velikosti celic in vplivajo na občutljivost za sredstva, ki ciljajo na proliferacijo ali mTOR-regulirane anabolične poti. Modifikacija RFP ohranja primernost celic A549 za takšne presnovne in farmakološke raziskave, hkrati pa omogoča neposredno vizualizacijo.

A549-RFP se pogosto uporablja v sistemih so-kulture, ortotopnih in ektopnih modelih ksenotransplantatov ter testih invazije ali metastaz, kjer fluorescenčno označevanje olajša razlikovanje tumorskih celic od stromalnih ali gostiteljskih komponent. Stabilna rdeča fluorescenca podpira aplikacije, vključno z zajemanjem živih celic, presejanjem z visoko vsebnostjo, kvantifikacijo na podlagi pretočne citometrije in optičnim zajemanjem in vivo. Kot sledljiva varianta dobro karakteriziranega modela pljučnega adenokarcinoma A549-RFP zagotavlja robustno platformo za preučevanje proliferacije tumorskih celic, epitelno-mezenhimalne prehoda, odziva na zdravila in interakcij med tumorjem in mikrookoljem v in vitro in in vivo okoljih.

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**Ethnicity** Kavkaški

A549-RFP celice | 305659

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 linija pljučnega karcinoma A549 vsebuje lentiviralni RFP konstrukt, ki omogoča slikanje z rdečo fluorescenco. Ta klasifikacija velja samo v Nemčiji in se lahko drugod 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 NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20–40 ur

A549-RFP celice | 305659

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavrzite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Shranjevanje pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA