Product sheet

Клітини A549-RFP | 305659

Загальна інформація

Description	A549-RFP — це флуоресцентно-мічений похідний варіант клітинної лінії A549 людської аденокарциноми легенів, модифікований для постійної експресії червоного флуоресцентного білка (RFP) з метою візуалізації та відстеження в режимі реального часу. Базова лінія A549 була створена на основі аденокарциноми легенів, отриманої від дорослого донора, і має епітеліальну морфологію з характеристиками адгезивного росту. Клітини A549 зберігають ознаки альвеолярних епітеліальних клітин II типу, включаючи експресію цитокератинів та здатність до синтезу білків, пов'язаних із сурфактантом. Введення касети стабільної експресії RFP забезпечує безперервну флуоресценцію без істотного порушення властивих батьківській лінії проліферативних та метаболічних властивостей, що робить A549-RFP придатною для довготривалих досліджень з використанням візуалізації. Функціональна характеристика клітин A549 у рамках великих панелей ракових клітин показала, що розмір клітин, вміст білка та швидкість синтезу білка позитивно корелюють з об'ємом клітин, а також що більші клітини, як правило, проліферують повільніше. У порівняльних аналізах клітини A549 відносяться до відносно менших, швидше проліферуючих епітеліальних ліній ракових клітин, на відміну від більших, більш мезенхімальних клітин, які демонструють вищу експресію віментину та нижчі рівні E-кадгерину. Ці метаболічні та фенотипні відмінності мають важливе значення для інтерпретації експериментальних даних, оскільки швидкість синтезу білків та метаболічні потоки залежать від розміру клітин і впливають на чутливість до речовин, що діють на проліферацію або на анаболічні шляхи, регульовані mTOR. Модифікація RFP зберігає придатність клітин A549 для таких метаболічних та фармакологічних досліджень, одночасно забезпечуючи можливість їх прямої візуалізації. A549-RFP широко використовується в системах кокультури, ортотопічних та ектопічних моделях ксенотрансплантатів, а також у тестах на інвазію чи метастазування, де флуоресцентне маркування полегшує розрізнення пухлинних клітин від компонентів строми або організму-господаря. Стабільна червона флуоресценція дозволяє використовувати клітини в таких сферах, як візуалізація живих клітин, скринінг з високою інформативністю, кількісний аналіз на основі проточної цитометрії та оптична візуалізація in vivo. Як відстежуваний варіант добре охарактеризованої моделі аденокарциноми легенів, A549-RFP забезпечує надійну платформу для вивчення проліферації пухлинних клітин, епітеліально-мезенхімального переходу, реакції на ліки та взаємодій між пухлиною та мікросередовищем як in vitro, так і in vivo. **Генетична модифікація:** Стабільно модифікована шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції для експресії репортера — червоного флуоресцентного білка (RFP); підтримується як поліклональна популяція під селекцією пуроміцином (1–5 мкг/мл). Рівень біобезпеки S1/BSL-1.
Organism	Людина
Tissue	Легені
Disease	Аденокарцинома легень
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Характеристики

Product sheet

Клітини A549-RFP | 305659

Age	58 років
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	A549-RFP (номер у каталозі Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія містить стабільно інтегрований репортерний червоний флуоресцентний білок (RFP), введений за допомогою реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції. Отриману поліклональну клітинну популяцію підтримували в умовах селекції пуроміцином (1–5 мкг/мл). Необхідний рівень біобезпеки S1. Ця класифікація діє лише на території Німеччини та може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	запит на пропозицію
Antigen expression	RFP (червоний флуоресцентний білок)
MSI-status	Мутація: p.Gly12Ser, гомозиготна; Мутація: p.Gln37Ter, гомозиготна
Mutational profile	Мутація: p.Gly12Ser, гомозиготна; Мутація: p.Gln37Ter, гомозиготна

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), з вмістом: 3,1 г/л глюкози, 2,5 мМ L-глутаміну, 15 мМ HEPES, 0,5 мМ пірувату натрію, 1,2 г/л $NaHCO_3$ (артикульний номер Cytion 820400a)

Клітини A549-RFP | 305659

Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	20-40 годин
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.
Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Центрифугуйте суміш при 200 x g протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище. 7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні

Клітини A549-RFP | 305659

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз