Product sheet

Células A549-RFP | 305659

Informações gerais

Description	A549-RFP é um derivado marcado com fluorescência da linhagem celular humana A549 de adenocarcinoma pulmonar, modificada geneticamente para expressar constitutivamente a proteína fluorescente vermelha (RFP) para visualização e rastreamento em tempo real. A linhagem parental A549 foi estabelecida a partir de um adenocarcinoma pulmonar derivado de um doador adulto e apresenta morfologia epitelial com características de crescimento aderente. As células A549 mantêm características das células epiteliais alveolares do tipo II, incluindo a expressão de citoqueratinas e a capacidade de produzir proteínas associadas ao surfactante. A introdução de uma cassete de expressão estável de RFP permite fluorescência contínua sem alterar significativamente as propriedades proliferativas e metabólicas intrínsecas da linhagem parental, tornando a A549-RFP adequada para estudos de imagem longitudinais. A caracterização funcional das células A549 em amplos painéis de células cancerosas demonstrou que o tamanho celular, o conteúdo proteico e a taxa de síntese proteica estão positivamente correlacionados com o volume celular, e que células maiores tendem a proliferar mais lentamente. Em análises comparativas, as células A549 situam-se entre as linhagens de células epiteliais cancerosas relativamente menores e de proliferação mais rápida, em contraste com células maiores e de caráter mais mesenquimal, que apresentam maior expressão de vimentina e níveis mais baixos de E-caderina. Essas distinções metabólicas e fenotípicas são relevantes para a interpretação experimental, uma vez que as taxas de síntese proteica e os fluxos metabólicos variam de acordo com o tamanho celular e influenciam a sensibilidade a agentes que têm como alvo a proliferação ou as vias anabólicas reguladas pelo mTOR. A modificação com RFP preserva a adequação das células A549 para tais investigações metabólicas e farmacológicas, ao mesmo tempo em que permite a visualização direta. A549-RFP é amplamente utilizada em sistemas de cocultura, modelos de xenoenxertos ortotópicos e ectópicos e ensaios de invasão ou metástase, nos quais a marcação fluorescente facilita a distinção entre células tumorais e componentes estromais ou do hospedeiro. A fluorescência vermelha estável permite aplicações que incluem imagens de células vivas, triagem de alto conteúdo, quantificação baseada em citometria de fluxo e imagens ópticas in vivo. Como variante rastreável de um modelo bem caracterizado de adenocarcinoma de pulmão, o A549-RFP oferece uma plataforma robusta para o estudo da proliferação de células tumorais, da transição epitelial-mesenquimal, da resposta a medicamentos e das interações entre o tumor e o microambiente, tanto em condições in vitro quanto in vivo. **Modificação genética:** Modificado de forma estável por transdução lentiviral incompetente para replicação, a fim de expressar um repórter de proteína fluorescente vermelha (RFP); mantido como uma população policlonal sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). Contenção S1/BSL-1.
Organism	Humano
Tissue	Pulmão
Disease	Adenocarcinoma pulmonar
Synonyms	A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Características

Product sheet

Células A549-RFP | 305659

Age	58 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	caucasiano
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

Citation	A549-RFP (número de catálogo da Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Esta linhagem celular contém um repórter de proteína fluorescente vermelha (RFP) integrado de forma estável, introduzido por meio de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.

Dados biomoleculares

Antigen expression	RFP (proteína fluorescente vermelha)
Mutational profile	Mutação: p.Gly12Ser, homozigótica; Mutação: p.Gln37Ter, homozigótica

Manuseio

Culture Medium	DMEM:F12 de Ham (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, p/v: 0,5 mM de piruvato de sódio, p/v: 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion 820400a
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase

Células A549-RFP | 305659

Doubling time	20 a 40 horas
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo + 10% de DMSO para garantir uma viabilidade adequada após o descongelamento.
Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente. 6. Centrifugue a mistura a 200 x g por 5 minutos e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento. 7. Siga o procedimento descrito na seção “Recuperação pós-descongelamento”
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular