

Buňky A549-RFP | 305659

Obecné informace

Description

A549-RFP je fluorescenčně značený derivát lidské buněčné linie adenokarcinomu plic A549, který byl geneticky upraven tak, aby konstitutivně exprimoval červený fluorescenční protein (RFP) pro vizualizaci a sledování v reálném čase. Původní linie A549 byla vytvořena z adenokarcinomu plic od dospělého dárce a vykazuje epiteliální morfologii s adhezivními růstovými charakteristikami. Buňky A549 si zachovávají vlastnosti alveolárních epiteliálních buněk typu II, včetně exprese cytokeratinů a schopnosti produkce proteinů spojených s povrchově aktivními látkami. Zavedení stabilní kazety pro expresi RFP umožňuje nepřetržitou fluorescenci bez významné změny vnitřních proliferačních a metabolických vlastností mateřské linie, díky čemuž je A549-RFP vhodný pro longitudinální zobrazovací studie.

Funkční charakterizace buněk A549 v rámci velkých panelů rakovinných buněk prokázala, že velikost buněk, obsah bílkovin a rychlost syntézy bílkovin pozitivně korelují s objemem buněk a že větší buňky mají tendenci se množit pomaleji. V komparativních analýzách se buňky A549 řadí mezi relativně menší, rychleji se množící epiteliální rakovinné buněčné linie, na rozdíl od větších, spíše mezenchymálních buněk, které vykazují vyšší expresi vimentinu a nižší hladiny E-kadherinu. Tyto metabolické a fenotypové rozdíly jsou relevantní pro experimentální interpretaci, protože rychlost syntézy proteinů a metabolické toky se mění s velikostí buněk a ovlivňují citlivost na látky zaměřené na proliferaci nebo mTOR-regulované anabolické dráhy. Modifikace RFP zachovává vhodnost buněk A549 pro takové metabolické a farmakologické výzkumy a zároveň umožňuje přímou vizualizaci.

A549-RFP je široce používán v systémech společné kultury, ortotopických a ektopických xenotransplantačních modelech a testech invaze nebo metastázy, kde fluorescenční značení usnadňuje rozlišení nádorových buněk od stromálních nebo hostitelských komponent. Stabilní červená fluorescence podporuje aplikace včetně zobrazování živých buněk, screeningu s vysokým obsahem, kvantifikace založené na průtokové cytometrii a optického zobrazování in vivo. Jako sledovatelná varianta dobře charakterizovaného modelu adenokarcinomu plic poskytuje A549-RFP robustní platformu pro studium proliferace nádorových buněk, epiteliálně-mezenchymální transformace, reakce na léky a interakcí mezi nádorem a mikroprostředím jak in vitro, tak in vivo.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce

Disease

Adenokarcinom plic

Synonyms

A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549

Charakteristika

Age

58 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Buňky A549-RFP | 305659

Regulační údaje

Citation	A549-RFP (katalogové číslo Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Tato linie karcinomu plic A549 obsahuje lentivirovou konstrukci RFP umožňující zobrazování červené fluorescence. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	RFP
MSI-status	Mutace: p.Gly12Ser, homozygotní; Mutace: p.Gln37Ter, homozygotní
Mutational profile	Mutace: p.Gly12Ser, homozygotní; Mutace: p.Gln37Ter, homozygotní

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 hodin
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Buňky A549-RFP | 305659

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA