

A549-RFP-celler | 305659**Generel information****Description**

A549-RFP er et fluorescensmærket derivat af den humane A549-lungeadenokarcinomcellelinje, der er konstrueret til konstant at udtrykke rødt fluorescerende protein (RFP) til visualisering og sporing i realtid. Den oprindelige A549-linje blev etableret fra et lungeadenokarcinom fra en voksen donor og udviser epitelial morfologi med adhærente vækstkarakteristika. A549-celler bevarer egenskaberne ved type II alveolære epitelceller, herunder ekspresion af cytokeratiner og evnen til produktion af overfladeaktive proteiner. Indførelsen af en stabil RFP-ekspressionskassette muliggør kontinuerlig fluorescens uden væsentlig ændring af den oprindelige linjes iboende proliferative og metaboliske egenskaber, hvilket gør A549-RFP velegnet til longitudinale billeddannelsesundersøgelser.

Funktionel karakterisering af A549-celler inden for store kræftcellepaneler har vist, at cellestørrelse, proteinindhold og proteinsyntese-hastighed er positivt korreleret med cellevolumen, og at større celler har tendens til at proliferere langsommere. I sammenlignende analyser er A549-celler placeret blandt relativt mindre, hurtigere prolifererende epitelkræftcellelinjer, i modsætning til større, mere mesenkym-lignende celler, der udviser højere vimentin-ekspresion og lavere E-cadherin-niveauer. Disse metaboliske og fænotypiske forskelle er relevante for eksperimentel fortolkning, da proteinsyntese-hastigheder og metaboliske fluxer skaleres med cellestørrelse og påvirker følsomheden over for midler, der er rettet mod proliferation eller mTOR-regulerede anabolske veje. RFP-modifikationen bevarer A549-cellernes egnethed til sådanne metaboliske og farmakologiske undersøgelser, samtidig med at den muliggør direkte visualisering.

A549-RFP er vidt anvendt i co-kultursystemer, ortotopiske og ektopiske xenotransplantationsmodeller og invasions- eller metastaseassays, hvor fluorescerende mærkning letter skelnen mellem tumorceller og stromale eller værtskomponenter. Den stabile røde fluorescens understøtter anvendelser, herunder live-celle-billedannelse, high-content screening, flowcytometri-baseret kvantificering og in vivo optisk billedannelse. Som en sporbar variant af en velkarakteriseret lungeadenokarcinom-model giver A549-RFP en robust platform til undersøgelse af tumorcelleproliferation, epitel-mesenkym-overgang, lægemiddelrespons og tumor-mikromiljø-interaktioner i både in vitro- og in vivo-miljøer.

Organism

Menneske

Tissue

Lunge

Disease

Adenokarcinom i lungerne

Synonyms

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

Karakteristika**Age**

58 år

Gender

Mand

Ethnicity

Kaukasisk

A549-RFP-celler | 305659**Regulatoriske data**

Citation	A549-RFP (Cytion-katalognummer 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Denne A549-lungekræftlinje indeholder et lentiviralt RFP-konstrukt, der muliggør rød fluorescensbilleddannelse. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	RFP
MSI-status	Mutation: p.Gly12Ser, homozygot; Mutation: p.Gln37Ter, homozygot
Mutational profile	Mutation: p.Gly12Ser, homozygot; Mutation: p.Gln37Ter, homozygot

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20-40 timer
Freeze medium	Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

A549-RFP-celler | 305659

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA