

Κύτταρα A549-RFP | 305659

Γενικές πληροφορίες

Description

Το A549-RFP είναι ένα φθορίζον παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς A549 αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα, που έχει σχεδιαστεί για να εκφράζει συστατικά την κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (RFP) για οπτικοποίηση και παρακολούθηση σε πραγματικό χρόνο. Η γονική σειρά A549 δημιουργήθηκε από αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα που προήλθε από ενήλικα δότη και παρουσιάζει επιθηλιακή μορφολογία με χαρακτηριστικά προσκολλητικής ανάπτυξης. Τα κύτταρα A549 διατηρούν τα χαρακτηριστικά των κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων τύπου II, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης των κυτοκερατινών και της ικανότητας παραγωγής πρωτεϊνών που σχετίζονται με τον επιφανειοδραστικό παράγοντα. Η εισαγωγή μιας σταθερής κασέτας έκφρασης RFP επιτρέπει τη συνεχή φθορισμό χωρίς να μεταβάλλει σημαντικά τις εγγενείς πολλαπλασιαστικές και μεταβολικές ιδιότητες της γονικής σειράς, καθιστώντας το A549-RFP κατάλληλο για διαχρονικές μελέτες απεικόνισης.

Ο λειτουργικός χαρακτηρισμός των κυττάρων A549 σε μεγάλα πάνελ καρκινικών κυττάρων έχει δείξει ότι το μέγεθος των κυττάρων, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και ο ρυθμός σύνθεσης πρωτεϊνών συσχετίζονται θετικά με τον όγκο των κυττάρων και ότι τα μεγαλύτερα κύτταρα τείνουν να πολλαπλασιάζονται πιο αργά. Σε συγκριτικές αναλύσεις, τα κύτταρα A549 τοποθετούνται μεταξύ των σχετικά μικρότερων, ταχύτερα πολλαπλασιαζόμενων επιθηλιακών καρκινικών κυτταρικών σειρών, σε αντίθεση με τα μεγαλύτερα, πιο μεσεγχυματικά κύτταρα που εμφανίζουν υψηλότερη έκφραση βιμεντίνης και χαμηλότερα επίπεδα E-καδερίνης. Αυτές οι μεταβολικές και φαινοτυπικές διαφορές είναι σημαντικές για την πειραματική ερμηνεία, καθώς οι ρυθμοί πρωτεϊνικής σύνθεσης και οι μεταβολικές ροές εξαρτώνται από το μέγεθος των κυττάρων και επηρεάζουν την ευαισθησία σε παράγοντες που στοχεύουν τον πολλαπλασιασμό ή τις αναβολικές οδούς που ρυθμίζονται από το mTOR. Η τροποποίηση RFP διατηρεί την καταλληλότητα των κυττάρων A549 για τέτοιες μεταβολικές και φαρμακολογικές έρευνες, ενώ επιτρέπει την άμεση οπτικοποίηση.

Το A549-RFP χρησιμοποιείται ευρέως σε συστήματα συν-καλλιέργειας, ορθοτοπικά και εκτοπικά μοντέλα ξενομοσχεύματος και δοκιμασίες εισβολής ή μετάστασης, όπου η φθορίζουσα σήμανση διευκολύνει τη διάκριση των καρκινικών κυττάρων από τα στρωματικά ή τα συστατικά του ξενιστή. Η σταθερή κόκκινη φθορισμός υποστηρίζει εφαρμογές όπως απεικόνιση ζωντανών κυττάρων, διαλογή υψηλού περιεχομένου, ποσοτικοποίηση με βάση κυτταρομετρία ροής και οπτική απεικόνιση in vivo. Ως ανιχνεύσιμη παραλλαγή ενός καλά χαρακτηρισμένου μοντέλου αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα, το A549-RFP παρέχει μια ισχυρή πλατφόρμα για τη μελέτη του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων, της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετά

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Disease Αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα

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

Χαρακτηριστικά

Age 58 χρόνια

Κύτταρα A549-RFP | 305659

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation A549-RFP (αριθμός καταλόγου Cytion 305659)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0023

GMO Status GMO-S1: Αυτή η σειρά καρκινωμάτων πνεύμονα A549 περιέχει ένα λεντιϊκό RFP κατασκεύασμα που επιτρέπει την απεικόνιση με κόκκινη φθορισμό. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και μπορεί να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression RFP

MSI-status Μετάλλαξη: p.Gly12Ser, ομόζυγη; Μετάλλαξη: p.Gln37Ter, ομόζυγη

Mutational profile Μετάλλαξη: p.Gly12Ser, ομόζυγη; Μετάλλαξη: p.Gln37Ter, ομόζυγη

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20-40 ώρες

Κύτταρα A549-RFP | 305659**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα $200 \times g$ για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.
7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA