

A549-RFP-solut | 305659

Yleisiä tietoja

Description

A549-RFP on fluoresoivasti leimattu johdannainen ihmisen A549-keuhkoadenokarsinoomasolulinjasta, joka on muokattu ilmentämään punaisen fluoresoivan proteiinin (RFP) reaaliaikaista visualisointia ja seurantaa varten. Emosolulinja A549 on peräisin aikuiselta luovuttajalta saadusta keuhkoadenokarsinoomasta, ja se osoittaa epiteelimorfologiaa ja adheesiivisiä kasvun ominaisuuksia. A549-solut säilyttävät tyypin II alveolaaristen epiteelisolujen ominaisuudet, mukaan lukien sytokeratien ilmentyminen ja kyky tuottaa pinta-aktiivisia proteiineja. Vakaan RFP-ilmentymiskasetin käyttöönotto mahdollistaa jatkuvan fluoresenssin ilman, että emosolulinjan luontaisia proliferaatiivisia ja metabolisia ominaisuuksia muutetaan merkittävästi, minkä ansiosta A549-RFP sopii pitkittäisiin kuvantamistutkimuksiin.

A549-solujen toiminnallinen karakterisointi suurissa syöpäsolupaneeleissa on osoittanut, että solujen koko, proteiinipitoisuus ja proteiinisynteesinopeus korreloivat positiivisesti solujen tilavuuden kanssa ja että suuremmat solut lisääntyvät yleensä hitaammin. Vertailevissa analyyseissä A549-solut sijoittuvat suhteellisen pienempien, nopeammin lisääntyvien epiteelisolulinjojen joukkoon, toisin kuin suuremmat, mesenkymaalisemmat solut, joilla on korkeampi vimentiniin ilmentyminen ja alhaisemmat E-kadheriinin pitoisuudet. Nämä metaboliset ja fenotyyppiset erot ovat merkityksellisiä kokeellisessa tulkinnessa, koska proteiinisynteesinopeudet ja metaboliset virtaukset skaalautuvat solujen koon mukaan ja vaikuttavat herkkyyteen proliferaatiota tai mTOR-säädelyä anabolisia reittejä kohdentaviin aineisiin. RFP-modifikaatio säilyttää A549-solujen sopivuuden tällaisiin metabolisiin ja farmakologisiin tutkimuksiin ja mahdollistaa samalla suoran visualisoinnin.

A549-RFP:tä käytetään laajalti yhteisviljelyjärjestelmissä, ortotopisissa ja ektopisissa ksenotransplantaattimalleissa sekä invaasio- tai metastaasitesteissä, joissa fluoresoiva merkintä helpottaa kasvainsolujen erottamista stroman tai isännän komponenteista. Vakaan punainen fluoresenssi tukee sovelluksia, kuten elävien solujen kuvantamista, korkean sisällön seulontaa, virtaussytometriaan perustuvaa kvantifiointia ja in vivo -optista kuvantamista. Hyvin karakterisoidun keuhkoadenokarsinoomamallin jäljitettävänä varianttina A549-RFP tarjoaa vankan alustan tuumorisolujen proliferaation, epiteeli-mesenkymaalisuuden siirtymän, lääkevasteen ja tuumorin mikroympäristön vuorovaikutusten tutkimiseen sekä in vitro- että in vivo -olosuhteissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Keuhkot

Disease

Keuhkojen adenokarsinooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

58 vuotta

Gender

Mies

A549-RFP-solut | 305659

Ethnicity	Kaukasialainen
------------------	----------------

Säätelytiedot

Citation	A549-RFP (Cytion-tuotenumero 305659)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0023
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Tämä A549-keuhkosyöpäsolulinja sisältää lentiviruksen RFP-rakenteen, joka mahdollistaa punaisen fluoresenssin kuvantamisen. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.
-------------------	---

Biomolekyylitiedot

Protein expression	tarjouspyyntö
---------------------------	---------------

MSI-status	Mutaatio: p.Gly12Ser, homotsygoottinen; Mutaatio: p.Gln37Ter, homotsygoottinen
-------------------	--

Mutational profile	Mutaatio: p.Gly12Ser, homotsygoottinen; Mutaatio: p.Gln37Ter, homotsygoottinen
---------------------------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	20–40 tuntia
----------------------	--------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.
----------------------	---

A549-RFP-solut | 305659**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädtyettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädssä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädstä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA