

A549-RFP ląstelės | 305659**Bendra informacija****Description**

A549-RFP yra fluorescenciniu žymikliu pažymėtas žmogaus A549 plaučių adenokarcinomos ląstelių linijos darinys, sukurtas taip, kad nuolat išreikštų raudoną fluorescencinį baltymą (RFP) realaus laiko vizualizavimui ir sekimui. Pirminė A549 linija buvo sukurta iš suaugusio donoro plaučių adenokarcinomos ir pasižymi epitelio morfologija su adhezinėmis augimo savybėmis. A549 ląstelės išlaiko II tipo alveolinių epitelio ląstelių savybes, įskaitant citocheratinų ekspresiją ir gebėjimą gaminti su paviršinio aktyvumo medžiagomis susijusius baltymus. Stabilios RFP ekspresijos kasetės įvedimas leidžia užtikrinti nuolatinę fluorescenciją, iš esmės nekeičiant pirminės linijos vidinių proliferacijos ir metabolizmo savybių, todėl A549-RFP tinka ilgalaikiams vaizdavimo tyrimams.

A549 ląstelių funkcinis charakterizavimas dideliuose vėžio ląstelių paneliuose parodė, kad ląstelių dydis, baltymų kiekis ir baltymų sintezės greitis yra teigiamai koreliuoti su ląstelių tūriu, o didesnės ląstelės paprastai dauginasi lėčiau. Lyginamuosiuose tyrimuose A549 ląstelės yra priskiriamos palyginti mažesnėms, greičiau besidauginančioms epitelio vėžio ląstelių linijoms, priešingai nei didesnės, labiau mezenchiminės ląstelės, kurios pasižymi didesniu vimentino ekspresijos ir mažesniu E-kadherino lygiu. Šie metaboliniai ir fenotipiniai skirtumai yra svarbūs eksperimentiniam interpretavimui, nes baltymų sintezės greitis ir metaboliniai srautai priklauso nuo ląstelių dydžio ir daro įtaką jautrumui agentams, veikiantiems proliferaciją arba mTOR reguliuojamus anabolinius kelius. RFP modifikacija išsaugo A549 ląstelių tinkamumą tokiems metaboliniams ir farmakologiniams tyrimams, tuo pačiu leidžiant jas tiesiogiai vizualizuoti.

A549-RFP plačiai naudojamas bendros kultūros sistemose, ortotopiniuose ir ektopiniuose ksenotransplantacijos modeliuose bei invazijos ar metastazių tyrimuose, kur fluorescencinis žymėjimas palengvina naviko ląstelių atskyrimą nuo stromos ar šeimininko komponentų. Stabili raudona fluorescencija palaiko tokias taikymo sritis kaip gyvų ląstelių vaizdavimas, didelio turinio atranka, srauto citometrijos pagrįstas kiekybinis vertinimas ir in vivo optinis vaizdavimas. Kaip gerai apibūdinto plaučių adenokarcinomos modelio atsekamas variantas, A549-RFP suteikia tvirtą platformą naviko ląstelių proliferacijos, epitelio-mezenchiminio perėjimo, vaistų reakcijos ir naviko mikroaplinkos sąveikos tyrimams tiek in vitro, tiek in vivo sąlygomis.

Organism Žmogus**Tissue** Plaučiai**Disease** Plaučių adenokarcinoma**Synonyms** A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549**Charakteristikos****Age** 58 metai**Gender** Vyras**Ethnicity** Kaukaziečių

A549-RFP ląstelės | 305659**Reguliavimo duomenys**

Citation	A549-RFP (Cytion katalogo numeris 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Ši A549 plaučių karcinomos linija turi lentivirusinį RFP konstrukta, leidžiantį atlikti raudoną fluorescencinį vaizdavimą. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	RFP
MSI-status	Mutacija: p.Gly12Ser, homozigotinė; Mutacija: p.Gln37Ter, homozigotinė
Mutational profile	Mutacija: p.Gly12Ser, homozigotinė; Mutacija: p.Gln37Ter, homozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 valandų
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $200 \times g$ greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA