

A549-RFP šūnas | 305659

Vispārīga informācija

Description

A549-RFP ir fluorescējoši marķēts cilvēka A549 plaušu adenokarcinomas šūnu līnijas atvasinājums, kas izstrādāts, lai konstitutīvi ekspresētu sarkano fluorescējošo proteīnu (RFP) reāllaika vizualizācijai un izsekošanai. Vecāku A549 līnija tika izveidota no pieauguša donora plaušu adenokarcinomas un uzrāda epitēlija morfoloģiju ar adhezīvu augšanas raksturlielumiem. A549 šūnas saglabā II tipa alveolāro epitēlija šūnu īpašības, tostarp citokeratīnu ekspresiju un spēju ražot ar virsmas aktīvo vielu saistītas proteīnas. Stabils RFP ekspresijas kasetes ieviešana nodrošina nepārtrauktu fluorescenci, būtiski nemainot vecāku līnijas iekšējās proliferatīvās un metaboliskās īpašības, padarot A549-RFP piemērotu gareniskajiem attēlveidošanas pētījumiem.

A549 šūnu funkcionālā raksturošana lielās vēža šūnu panelis ir parādījusi, ka šūnu izmērs, proteīnu saturs un proteīnu sintēzes ātrums ir pozitīvi korelēti ar šūnu tilpumu un ka lielākas šūnas mēdz proliferēt lēnāk. Salīdzinošās analīzēs A549 šūnas ir pozicionētas starp relatīvi mazākām, ātrāk proliferējošām epitēlija vēža šūnu līnijām, pretstatā lielākām, mesenchimāliem līdzīgām šūnām, kurām ir augstāka vimentīna ekspresija un zemāks E-kadherīna līmenis. Šīs metaboliskās un fenotipiskās atšķirības ir nozīmīgas eksperimentālajā interpretācijā, jo proteīnu sintēzes ātrums un metaboliskie plūsmi ir atkarīgi no šūnu izmēra un ietekmē jutību pret vielām, kas vērstas pret vairošanos vai mTOR regulētiem anaboliskajiem ceļiem. RFP modifikācija saglabā A549 šūnu piemērotību šādiem metaboliskiem un farmakoloģiskiem pētījumiem, vienlaikus nodrošinot tiešu vizualizāciju.

A549-RFP plaši izmanto kopkultūras sistēmās, ortotopiskos un ektoiskos ksenotransplantātu modeļos, kā arī invāzijas vai metastāžu testos, kur fluorescences marķējums atvieglo audzēja šūnu atšķiršanu no stromas vai saimnieka komponentiem. Stabīlā sarkanā fluorescences nodrošina tādas lietojumprogrammas kā dzīvo šūnu attēlveidošana, augstas izšķirtspējas skrīnings, plūsmas citometrijas balstīta kvantificēšana un in vivo optiskā attēlveidošana. Kā labi raksturota plaušu adenokarcinomas modeļa izsekojams variants, A549-RFP nodrošina stabilu platformu audzēja šūnu proliferācijas, epitēlija-mezodermālo pāreju, zāļu reakcijas un audzēja mikroapstākļu mijiedarbības pētīšanai gan in vitro, gan in vivo apstākļos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Plaušu adenokarcinoma

Synonyms

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

Raksturojums

Age

58 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

A549-RFP šūnas | 305659

Normatīvie dati

Citation	A549-RFP (Cytion kataloga numurs 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Šī A549 plaušu karcinomas līnija satur lentivīrusu RFP konstrukciju, kas ļauj veikt sarkanu fluorescences attēlveidošanu. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	RFP
MSI-status	Mutācija: p.Gly12Ser, homozigota; Mutācija: p.Gln37Ter, homozigota
Mutational profile	Mutācija: p.Gly12Ser, homozigota; Mutācija: p.Gln37Ter, homozigota

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 stundas
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA