

Komórki A549-RFP | 305659

Informacje ogólne

Description

A549-RFP to znakowana fluorescencyjnie pochodna ludzkiej linii komórek gruczolakoraka płuca A549, zmodyfikowana genetycznie w celu konstytutywnej ekspresji czerwonego białka fluorescencyjnego (RFP) w celu wizualizacji i śledzenia w czasie rzeczywistym. Rodzicielska linia A549 została utworzona z gruczolakoraka płuca pochodzącego od dorosłego dawcy i wykazuje morfologię nabłonkową z cechami wzrostu przylegającego. Komórki A549 zachowują cechy komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych typu II, w tym ekspresję cytokeratin i zdolność do produkcji białek związanych z surfaktantem. Wprowadzenie stabilnej kasety ekspresji RFP umożliwia ciągłą fluorescencję bez znaczącej zmiany wewnętrznych właściwości proliferacyjnych i metabolicznych linii macierzystej, dzięki czemu A549-RFP nadaje się do badań obrazowania podłuznego.

Charakterystyka funkcjonalna komórek A549 w dużych panelach komórek nowotworowych wykazała, że wielkość komórek, zawartość białka i szybkość syntezy białek są dodatnio skorelowane z objętością komórek, a większe komórki mają tendencję do wolniejszej proliferacji. W analizach porównawczych komórki A549 plasują się wśród stosunkowo mniejszych, szybciej proliferujących linii komórek nowotworowych nabłonka, w przeciwieństwie do większych, bardziej mezenchymalnych komórek, które wykazują wyższą ekspresję wimentyny i niższy poziom E-kadheryny. Te różnice metaboliczne i fenotypowe mają znaczenie dla interpretacji eksperymentalnej, ponieważ tempo syntezy białek i strumienie metaboliczne są proporcjonalne do wielkości komórek i wpływają na wrażliwość na środki ukierunkowane na proliferację lub szlaki anaboliczne regulowane przez mTOR. Modyfikacja RFP zachowuje przydatność komórek A549 do takich badań metabolicznych i farmakologicznych, umożliwiając jednocześnie bezpośrednią wizualizację.

A549-RFP jest szeroko stosowany w systemach współhodowli, ortotopowych i ektopowych modelach przeszczepów heterogenicznych oraz testach inwazji lub przerzutów, w których znakowanie fluorescencyjne ułatwia odróżnienie komórek nowotworowych od elementów zrębu lub gospodarza. Stabilna czerwona fluorescencja wspiera zastosowania, w tym obrazowanie żywych komórek, przesiewanie o wysokiej zawartości, kwantyfikację opartą na cytometrii przepływowej oraz obrazowanie optyczne in vivo. Jako identyfikowalny wariant dobrze scharakteryzowanego modelu gruczolakoraka płuca, A549-RFP stanowi solidną platformę do badania proliferacji komórek nowotworowych, przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego, odpowiedzi na leki oraz interakcji między nowotworem a mikrośrodowiskiem zarówno w warunkach in vitro, jak i in vivo.

Organism

Człowiek

Tissue

Płuco

Disease

Gruczolakorak płuc

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

58 lat

Gender

Mężczyzna

Komórki A549-RFP | 305659

Ethnicity	Kaukaski
------------------	----------

Dane regulacyjne

Citation	A549-RFP (numer katalogowy Cytion 305659)
-----------------	---

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórek raka płuca A549 zawiera konstrukcję lentowirusową RFP umożliwiającą obrazowanie w czerwonej fluorescencji. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może się różnić w innych krajach.
-------------------	--

Dane biomolekularne

Protein expression	zapytanie ofertowe
---------------------------	--------------------

MSI-status	Mutacja: p.Gly12Ser, homozygotyczna; Mutacja: p.Gln37Ter, homozygotyczna
-------------------	--

Mutational profile	Mutacja: p.Gly12Ser, homozygotyczna; Mutacja: p.Gln37Ter, homozygotyczna
---------------------------	--

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

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

Doubling time	20–40 godzin
----------------------	--------------

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.
----------------------	---

Komórki A549-RFP | 305659

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA