

Bunky A549-RFP | 305659**Všeobecné informácie****Description**

A549-RFP je fluorescenčne značený derivát ľudskej bunky A549 pľúcneho adenokarcinómu, ktorý bol geneticky upravený tak, aby konštitutívne exprimoval červený fluorescenčný proteín (RFP) pre vizualizáciu a sledovanie v reálnom čase. Rodičovská línia A549 bola vytvorená z pľúcneho adenokarcinómu pochádzajúceho od dospelého darcu a vykazuje epitelovú morfológiu s adhezívnymi rastovými charakteristikami. Bunky A549 si zachovávajú vlastnosti alveolárnych epitelových buniek typu II, vrátane expresie cytokeratínov a schopnosti produkovať proteíny asociované s povrchovo aktívnymi látkami. Zavedenie stabilnej kazety na expresiu RFP umožňuje kontinuálnu fluorescenciu bez výraznej zmeny vnútorných proliferatívnych a metabolických vlastností rodičovskej línie, čím je A549-RFP vhodný na longitudinálne zobrazovacie štúdie.

Funkčná charakteristika buniek A549 v rámci veľkých panelov rakovinových buniek preukázala, že veľkosť buniek, obsah proteínov a rýchlosť syntézy proteínov pozitívne korelujú s objemom buniek a že väčšie bunky majú tendenciu proliferovať pomalšie. V komparatívnych analýzach sa bunky A549 nachádzajú medzi relatívne menšími, rýchlejšie proliferujúcimi epiteliálnymi rakovinovými bunkovými líniami, na rozdiel od väčších, viac mezenchýmových buniek, ktoré vykazujú vyššiu expresiu vimentínu a nižšie hladiny E-kadherínu. Tieto metabolické a fenotypové rozdiely sú relevantné pre experimentálnu interpretáciu, pretože rýchlosť syntézy proteínov a metabolické toky sa menia s veľkosťou buniek a ovplyvňujú citlivosť na látky zamerané na proliferáciu alebo anabolické dráhy regulované mTOR. Modifikácia RFP zachováva vhodnosť buniek A549 pre takéto metabolické a farmakologické vyšetrenia a zároveň umožňuje priamu vizualizáciu.

A549-RFP sa široko používa v systémoch spoločnej kultivácie, ortotopických a ektopických xenotransplantačných modeloch a testoch invázie alebo metastázy, kde fluorescenčné značenie uľahčuje rozlíšenie nádorových buniek od stromálnych alebo hostiteľských zložiek. Stabilná červená fluorescencia podporuje aplikácie vrátane zobrazovania živých buniek, skríningu s vysokým obsahom, kvantifikácie na báze prietokovej cytometrie a optického zobrazovania in vivo. Ako sledovateľná varianta dobre charakterizovaného modelu adenokarcinómu pľúc poskytuje A549-RFP robustnú platformu na štúdium proliferácie nádorových buniek, epiteliálno-mezenchýmovej transformácie, reakcie na lieky a interakcií medzi nádorom a mikroprostredím v in vitro aj in vivo podmienkach.

Organism Ľudské**Tissue** Pľúca**Disease** Adenokarcinóm pľúc**Synonyms** A 549, A549, NCI-A549, A549/ATCC, A549 ATCC, A549ATCC, hA549**Charakteristika****Age** 58 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský

Bunky A549-RFP | 305659**Regulačné údaje**

Citation	A549-RFP (číslo katalógu Cytion 305659)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023
GMO Status	GMO-S1: Táto línia karcinómu pľúc A549 obsahuje lentivírusovú konštrukciu RFP, ktorá umožňuje zobrazovanie červenej fluoescencie. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	RFP
MSI-status	Mutácia: p.Gly12Ser, homozygotná; Mutácia: p.Gln37Ter, homozygotná
Mutational profile	Mutácia: p.Gly12Ser, homozygotná; Mutácia: p.Gln37Ter, homozygotná

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20–40 hodín
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Bunky A549-RFP | 305659

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA