

A549/DDP rakud | 305047

Üldine teave

Description

A549/DDP rakuliin on A549 rakuliini ravimresistentne variant, mis omakorda on inimese alveolaarse basaalepiteeli adenokartsinoomi mudel. See variant on spetsiaalselt valitud resistentsuse tõttu tsisplatiini (DDP) suhtes, mis on tavaline kemoteeraapia ravim, mida kasutatakse erinevate vähivormide, sealhulgas kopsuvähi raviks. A549/DDP rakuliini väljatöötamine võimaldab teadlastel uurida kemoresistentsuse aluseks olevaid mehhanisme, mis on vähiravi üks peamisi probleeme.

Uuringutes kasutatakse A549/DDP rakuliini tsisplatiiniresistentsuse biokeemiliste radade uurimiseks. See hõlmab geeniekspressiooni, valkude funktsiooni ja raku metabolismi muutuste uurimist, mis annavad tsisplatiinile resistentsuse. Rakuliin on väärtuslik ka selliste uute ravimite või ravimikombinatsioonide sõelumisel, mis suudavad resistentsust ületada, andes nii ülevaateid, mis on olulised tõhusamate kopsuvähi vastaste ravistrateegiate väljatöötamiseks.

Lisaks sellele aitavad A549/DDP rakuliiniga tehtavad uuringud paremini mõista kopsuvähi progresseerumise ja metastaaside tekke molekulaarseid aluseid kemoresistentsuse kontekstis. See rakuliin on oluline vahend translatiivsete uuringute jaoks, mis võimaldab ühendada eksperimentaalseid tulemusi võimalike kliiniliste rakendustega onkoloogias.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Omadused

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation A549/DDP (Cytioni katalooginumber 305047)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_C0W4

Biomolekulaarsed andmed

A549/DDP rakud | 305047**Töötlemine**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

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

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	---

Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
----------------------	---

A549/DDP rakud | 305047

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

A549/DDP rakud | 305047

Sterility

Mükoplasma kontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.