

A549/DDP ląstelės | 305047**Bendra informacija****Description**

A549/DDP ląstelių linija yra vaistams atsparus A549 ląstelių linijos, kuri yra žmogaus alveolinės bazinės epitelio adenokarcinomos modelis, variantas. Šis variantas buvo specialiai atrinktas dėl atsparumo cisplatinai (DDP) - įprastam chemoterapiniam vaistui, naudojamam įvairiems vėžiniams susirgimams, įskaitant plaučių vėžį, gydyti. Sukūrus A549/DDP ląstelių liniją, mokslininkai gali tirti chemorezistentiškumo mechanizmus, kurie yra pagrindinis vėžio gydymo iššūkis.

Moksliniuose tyrimuose A549/DDP ląstelių linija naudojama tiriant biocheminius kelius, susijusius su atsparumu cisplatinai. Tai apima genų raiškos, baltymų funkcijos ir ląstelių metabolizmo pokyčių, lemiančių atsparumą cisplatinai, tyrimą. Ši ląstelių linija taip pat vertinga atliekant naujų vaistų ar vaistų derinių, galinčių įveikti atsparumą, atranką, kuri suteikia įžvalgų, labai svarbių kuriant veiksmingesnes plaučių vėžio gydymo strategijas.

Be to, tyrimai, atlikti naudojant A549/DDP ląstelių liniją, padeda geriau suprasti molekulinis plaučių vėžio progresavimo ir metastazavimo pagrindus chemorezistentiškumo kontekste. Ši ląstelių linija yra labai svarbus įrankis transliaciniams tyrimams, leidžiantis sujungti eksperimentinius rezultatus su galimais klinikiniais taikymais onkologijoje.

Organism Žmogus**Tissue** Plaučiai**Charakteristikos****Morphology** Epitelis**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** A549/DDP (Cytion katalogo numeris 305047)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C0W4**Biomolekuliniai duomenys**

A549/DDP ląstelės | 305047**Tvarkymas**

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

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

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

A549/DDP ląstelės | 305047

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 švriu 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 $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

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 perkelti 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 perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

A549/DDP ląstelės | 305047

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.