

A549 šūnas | 300114

Vispārīga informācija

Description

A549 šūnas, kas iegūtas no plaušu adenokarcinomas audiem, ir primārais modelis, ko izmanto vēža pētījumos, jo īpaši biomedicīnas laboratorijās, kas pievēršas ar plaušu vēzi saistītiem gadījumiem. A549 šūnas parasti izmanto kā in vitro modeli plaušu vēža bioloģijas, zāļu skrīninga un toksisko savienojumu iedarbības pētījumiem.

Toksikoloģijas pētījumos A549 šūnas ir kontrolēts eksperimentāls modelis, kas ļauj zinātniekiem izpētīt toksiskās iedarbības un šūnu reakcijas mehānismus. Izprotot šos mehānismus, pētnieki var labāk novērtēt vielu drošību un, iespējams, mazināt to kaitīgo ietekmi.

A549 karcinomas šūnas ir plaši izmantotas kā in vitro modelis plaušu vēža patoģenēzes izpētei un kā alternatīvs audu kultūru modelis dažādiem ar plaušu slimību saistītiem pētījumiem biomedicīnas laboratorijās. Šīs šūnas saglabā II tipa alveolāro epitēlija šūnu īpašības, un tās izmanto, lai pētītu epitēlija reakcijas uz dažādām infekcijām un iekaisuma stimuliem, tostarp plaušu iekaisumu.

Turklāt cilvēka šūnu līnija A549 kalpo kā vērtīgs instruments, lai izstrādātu specifiskas antivielas, kas vērstas pret ar plaušu vēzi saistītiem proteīniem vai marķieriem. Pakļaujot šīs šūnas interesējošām vielām, pētnieki var izpētīt, kā tās ietekmē šūnu dzīvotspēju, proliferāciju, apoptozi un citus šūnu procesus. Šī informācija palīdz noteikt potenciālos terapeitiskos mērķus un izstrādāt jaunus plaušu vēža ārstēšanas veidus.

Kopumā A549 karcinomas šūnas ir izšķirošas vēža pētījumos, jo īpaši attiecībā uz plaušu vēzi, un tās kalpo kā in vitro modelis vēža un toksikoloģijas pētījumiem, efektīvas ārstēšanas un zāļu skrīninga izstrādei.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Karcinoma

Synonyms

A 549, A-549, NCI-A549, hA54

Raksturojums

Age

58 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

A549 šūnas | 300114

Normatīvie dati

Citation	A549 (Cytion kataloga numurs 300114)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0023

Biomolekulārie dati

Protein expression	P53 pozitīvs
Isoenzymes	G6PD, B tips
Reverse transcriptase	Negatīvs

Karyotype A549 šūnām ir modālais hromosomu skaits n2, dažām šūnām ir 64 hromosomas.

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

A549 šūnas | 300114

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedijiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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 pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

A549 šūnas | 300114

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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.