

A549/DDP šūnas | 305047**Vispārīga informācija****Description**

A549/DDP šūnu līnija ir A549 šūnu līnijas, kas pati par sevi ir cilvēka alveolārās bazālās epitēlija adenokarcinomas modelis, zāļu rezistents variants. Šis variants ir īpaši atlasīts pēc tā rezistences pret cisplatīnu (DDP), kas ir izplatīts ķīmijterapijas līdzeklis, ko izmanto dažādu vēža veidu, tostarp plaušu vēža, ārstēšanā. A549/DDP šūnu līnijas izveide ļauj pētniekiem pētīt mehānismus, kas ir pamatā ķīmoresistencei, kas ir liela problēma vēža terapijā.

Pētījumos A549/DDP šūnu līniju izmanto, lai izpētītu bioķīmiskos ceļus, kas saistīti ar rezistenci pret cisplatīnu. Tas ietver gēnu ekspresijas, olbaltumvielu funkcijas un šūnu metabolisma izmaiņu izpēti, kas rada rezistenci pret cisplatīnu. Šūnu līnija ir vērtīga arī jaunu zāļu vai zāļu kombināciju, kas var pārvarēt rezistenci, skrīningā, sniedzot atziņas, kas ir ļoti svarīgas, lai izstrādātu efektīvākas terapeitiskās stratēģijas plaušu vēža ārstēšanai.

Turklāt pētījumi, kuros izmantota A549/DDP šūnu līnija, palīdz labāk izprast plaušu vēža progresēšanas un metastāžu veidošanās molekulāro pamatu saistībā ar ķīmoresistenci. Šī šūnu līnija kalpo kā būtisks instruments translatoloģisko pētījumu veikšanai, kas savieno eksperimentālos atklājumus ar iespējamiem klīniskiem lietojumiem onkoloģijā.

Organism Cilvēks**Tissue** Plaušas**Raksturojums****Morphology** Epitēlija**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** A549/DDP (Cytion kataloga numurs 305047)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C0W4**Biomolekulārie dati****Darbs ar**

A549/DDP šūnas | 305047

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

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

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantotiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt 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.
---------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

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.
----------------------	---

A549/DDP šūnas | 305047**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 pārnesiet 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 pārnest 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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

A549/DDP šūnas | 305047

Sterility

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

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