

A549/DDP-solut | 305047**Yleisiä tietoja****Description**

A549/DDP-solulinja on lääkkeille vastustuskykyinen muunnos A549-solulinjasta, joka puolestaan on ihmisen alveolaarisen basaali-epiteelin adenokarsinooman malli. Tämä muunnos on valittu erityisesti sen vuoksi, että se on resistentti sislplatiinille (DDP), joka on yleinen kemoterapialääke, jota käytetään useiden syöpien, myös keuhkosyövän, hoidossa. A549/DDP-solulinjan kehittäminen antaa tutkijoille mahdollisuuden tutkia kemoresistenssin taustalla olevia mekanismeja, mikä on suuri haaste syövän hoidossa.

Tutkimuksessa A549/DDP-solulinjaa käytetään sislplatiiniresistenssiin liittyvien biokemiallisten reittien tutkimiseen. Tähän sisältyy sellaisten geeniekspression, proteiinien toiminnan ja soluaineenvaihdunnan muutosten tutkiminen, jotka aiheuttavat resistenssiä sislplatiinia vastaan. Solulinja on myös arvokas sellaisten uusien lääkkeiden tai lääkeyhdistelmien seulonnassa, joilla resistenssi voidaan voittaa, ja se tarjoaa tietoa, joka on ratkaisevan tärkeää keuhkosyöpään kohdistuvien tehokkaampien hoitostrategioiden kehittämiseksi.

Lisäksi A549/DDP-solulinjalla tehdyt tutkimukset auttavat ymmärtämään paremmin keuhkosyövän etenemisen ja etäpesäkkeiden muodostumisen molekyyliperustaa kemoresistenssin yhteydessä. Tämä solulinja toimii kriittisenä välineenä translaatiotutkimuksessa, joka yhdistää kokeelliset havainnot mahdollisiin kliinisiin sovelluksiin onkologiassa.

Organism Ihminen**Tissue** Keuhkot**Ominaisuudet****Morphology** Epiteeli**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** A549/DDP (Cytionin luettelonumero 305047)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C0W4**Biomolekyyli-tiedot**

A549/DDP-solut | 305047**Käsittely****Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements**

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Fluid renewal

2-3 kertaa viikossa

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

A549/DDP-solut | 305047

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

A549/DDP-solut | 305047

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.