

## Κύτταρα O-342 | 500305

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά O-342 προέρχεται από όγκο ωθηκών αρουραίου και χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τον καρκίνο, ιδιαίτερα σε μελέτες που εστιάζουν στον καρκίνο των ωθηκών και στην ανοχή στη χημειοθεραπεία. Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από την ικανότητά της να αναπτύσσεται σε μονοστρωματικό στρώμα και να εισέρχεται σε φάση λογαριθμικής ανάπτυξης περίπου 24 ώρες μετά τη σορά, με χρόνο διπλασιασμού του κυτταρικού πληθυσμού περίπου 24 ώρες. Η κυτταρική σειρά O-342 χρησιμεύει ως γονική σειρά για διάφορες υποσειρές, συμπεριλαμβανομένης της υποσειράς O-342/DDP ανθεκτικής στη σισπλατίνη, η οποία αναπτύχθηκε μέσω της σταδιακής αύξησης των συγκεντρώσεων σισπλατίνης *in vitro*.

Τα κύτταρα O-342 εμφανίζουν ετεροπλοειδία στη χρωμοσωμική τους δομή, η οποία έρχεται σε αντίθεση με τον σχεδόν διπλοειδή καρυότυπο που παρατηρείται στην υπογραμμή O-342/DDP. Αυτή η καρυοτυπική αλλαγή είναι ενδεικτική της επιλεκτικής πίεσης που ασκείται από τη συνεχή έκθεση στη σισπλατίνη, η οποία εξαλείφει τον ευαίσθητο στη σισπλατίνη υποπληθυσμό, με αποτέλεσμα την κυριαρχία των ανθεκτικών κυττάρων. Βιοχημικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι τα κύτταρα O-342/DDP παρουσιάζουν 33-πλάσια αύξηση της ανθεκτικότητας στη σισπλατίνη σε σύγκριση με τα γονικά κύτταρα O-342. Αυτή η ανθεκτικότητα αντικατοπτρίζεται στις τιμές ID50, με τα κύτταρα O-342/DDP να έχουν ID50 33  $\mu\text{M}$  σε σύγκριση με 1  $\mu\text{M}$  στα κύτταρα O-342.

Περαιτέρω μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι τα κύτταρα O-342/DDP έχουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ενδοκυτταρικής ολικής γλουταθειόνης (GSH+GSSG) στα 3,04  $\text{nmol}/10^6$  κύτταρα, σε σύγκριση με 1,37  $\text{nmol}/10^6$  κύτταρα στα κύτταρα O-342. Τα αυξημένα επίπεδα γλουταθειόνης σχετίζονται με ενισχυμένες ικανότητες αποτοξίνωσης, συμβάλλοντας στην χημειοανοχή που παρατηρείται στα κύτταρα O-342/DDP. Επιπλέον, μετά από θεραπεία με σισπλατίνη, οι διασταυρώσεις μεταξύ των κλώνων DNA και οι θραύσεις μονόκλωνου DNA είναι σημαντικά υψηλότερες στα γονικά κύτταρα O-342 σε σύγκριση με τα ανθεκτικά κύτταρα O-342/DDP, υποδηλώνοντας αυξημένη ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA στην ανθεκτική υπογραμμή.

Συνολικά, η κυτταρική σειρά O-342, μαζί με την ανθεκτική στη σισπλατίνη υποσειρά O-342/DDP, παρέχει ένα ισχυρό μοντέλο για τη διερεύνηση των μηχανισμών χημειοανθεκτικότητας στον καρκίνο των ωθηκών. Αυτές οι κυτταρικές σειρές είναι ανεκτίμητες για τον εντοπισμό πιθανών θεραπευτικών στόχων και την ανάπτυξη στρατηγικών για την υπέρβαση της ανθεκτικότητας στη χημειοθεραπεία, βελτιώνοντας έτσι τα αποτελέσματα της θεραπείας για τις ασθενείς με καρκίνο των ωθηκών.

**Organism** Αρουραίος

**Tissue** Ωοθήκη

**Disease** Αδενοκαρκίνωμα

## Χαρακτηριστικά

**Breed/Subspecies** BDlx

**Gender** Γυναίκα

**Morphology** Επιθηλιοειδής

## Κύτταρα O-342 | 500305

**Growth properties** Προσκολλημένο

**Ρυθμιστικά δεδομένα**

**Citation** O-342 (αριθμός καταλόγου Cytion 500305)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_5847

**Βιομοριακά δεδομένα****Χειρισμός**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)

**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

## Κύτταρα O-342 | 500305

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

## Κύτταρα O-342 | 500305

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.