

O-342 rakud | 500305

Üldine teave

Description

O-342 rakuliin on saadud rottide munasarjavähist ja seda kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes, eriti munasarjavähi ja kemoterapia resistentsuse uuringutes. Seda rakuliini iseloomustab võime kasvada ühekihilisena ja jõuda log-faasi kasvu umbes 24 tundi pärast külvamist, kusjuures rakkude populatsiooni kahekordistumisaeg on umbes 24 tundi. O-342 rakuliin on mitme alliliini vanemliini, sealhulgas tsisplatiiniresistentset O-342/DDP alliliini, mis arendati välja tsisplatiini kontsentratsiooni järkjärgulise suurendamise teel in vitro.

O-342 rakkudel esineb kromosoomide struktuuris heteroploidus, mis on vastandiks O-342/DDP alliiinis täheldatud peaaegu diploidsele kariotübile. See kariotüübi muutus viitab pideva tsisplatiiniga kokkupuute poolt avaldatavale selektiivsele survele, mis kõrvaldab tsisplatiinile tundliku alarühma, mille tulemusena domineerivad resistentsed rakud. Biokeemilised analüüsid on näidanud, et O-342/DDP rakkudel on 33-kordne resistentsus tsisplatiini suhtes võrreldes emarakkudega O-342. See resistentsus peegeldub ID50 väärtustes, kus O-342/DDP rakkudel on ID50 33 µM võrreldes 1 µM-ga O-342 rakkudel.

Edasised uuringud on näidanud, et O-342/DDP rakkudel on oluliselt kõrgem raku sisene glutatiooni (GSH+GSSG) tase, 3,04 nmol/10⁶ rakku, võrreldes 1,37 nmol/10⁶ rakku O-342 rakkudel. Kõrgenenud glutatiooni tase on seotud paranenud detoksikatsioonivõimega, mis aitab kaasa O-342/DDP rakkudes täheldatud kemoresistentsusele. Lisaks on pärast tsisplatiinravi DNA ahelatevahelised ristseosed ja üheaheelised katkestused märkimisväärselt kõrgemad vanemates O-342 rakkudes kui resistentsetes O-342/DDP rakkudes, mis viitab resistentses alaliinis kõrgenenud DNA parandamisvõimele.

Kokkuvõttes pakub O-342 rakuliin koos oma tsisplatiiniresistentsete subliinidega O-342/DDP tugeva mudeli munasarjavähi kemoresistentsuse mehhanismide uurimiseks. Need rakuliinid on hindamatud potentsiaalsete ravi sihtmärkide kindlakstegemisel ja kemoterapia resistentsuse ületamise strateegiate väljatöötamisel, parandades seeläbi munasarjavähi patsientide ravi tulemusi.

Organism Rott

Tissue Munasarjad

Disease Adenokartsinoom

Omadused

Breed/Subspecies BD1x

Gender Naised

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

O-342 rakud | 500305

Regulatiivsed andmed

Citation	O-342 (Cytioni katalooginumber 500305)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_5847

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAGA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	Soovitav on suhe 1:4 kuni 1:6
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

O-342 rakud | 500305

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

O-342 rakud | 500305

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

Rat_D1Wox31: 108
Rat_D2Wox37: 150
Rat_D19Wox11: 228
Rat_D10Wox8: 266
Rat_D4Wox7: 145
Rat_D2Wox27: 227
Rat_D5Rat33: 136
Rat_D10Wox11: 171
Rat_D1Wox23: 226
Rat_D12Wox1: 410
Rat_D6Wox2: 108
Rat_D8Wox7: 185
Rat_D6Cebr1: 231
SRY: x,x