

Komórki OE33 | 305458

Informacje ogólne

Description

OE33 to ludzka linia komórkowa gruczolakoraka przełyku, wyhodowana z guza pierwotnego związanego z przełykiem Barretta. Linia ta jest szeroko wykorzystywana w badaniach nad biologią molekularną i reakcjami terapeutycznymi gruczolakoraka przełyku, zwłaszcza w kontekście progresji przełyku Barretta. OE33 stanowi odpowiedni model do zrozumienia patogenezy tego nowotworu, którego częstość występowania rośnie i który w zaawansowanych stadiach wiąże się z niekorzystnym rokowaniem.

Komórki OE33 wykazują morfologię nabłonkową i rosną w sposób adhezyjny w standardowych warunkach hodowli. Linia komórkowa charakteryzuje się cechami molekularnymi typowymi dla gruczolakoraka przełyku, w tym mutacjami i zaburzeniami szlaków sygnałowych zaangażowanych w powstawanie nowotworu, takich jak szlaki sygnałowe p53 i HER2/neu. Linia komórkowa OE33 jest szczególnie przydatna do badania reakcji komórkowych na interwencje terapeutyczne ukierunkowane na szlak HER2/neu oraz inne szlaki związane z progresją nowotworu i opornością na leczenie. Służy ona również jako narzędzie do badania interakcji między komórkami nowotworowymi a ich mikrośrodowiskiem, a także mechanizmów przerzutów i unikania odpowiedzi immunologicznej.

W badaniach przedklinicznych linia komórkowa OE33 jest szeroko stosowana w badaniach przesiewowych leków w celu oceny skuteczności chemioterapii, terapii celowanych oraz nowych kombinacji terapeutycznych mających na celu poprawę wyników leczenia gruczolakoraka przełyku. Ponadto linia ta jest wykorzystywana w modelach przeszczepów heterogenicznych do oceny nowotworowości i odpowiedzi na leczenie in vivo. Znaczenie kliniczne oraz cechy molekularne linii OE33 sprawiają, że stanowi ona nieocenione źródło wiedzy pozwalające pogłębiać nasze zrozumienie gruczolakoraka przełyku oraz opracowywać skuteczne metody leczenia tej agresywnej choroby.

Organism Człowiek**Tissue** Przełyk**Disease** Gruczolakorak**Synonyms** OE-33, JROECL 33, JROECL33, OEC33

Charakterystyka

Age 73 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka

Komórki OE33 | 305458

Growth properties

Komórki przylegające, pojedyncze komórki i skupiska

Dane regulacyjne

Citation

OE33 (numer katalogowy Cytion 305458)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0471

Dane biomolekularne

Viruses

EBV-, HBV-, HCV-, HIV-1-, HIV-2-, HPV-, HTLV-I/-II-, MLV-

Mutational profile

Mutacja: TP53, prosta, p.Cys135Tyr (c.404G>A), nieokreślona

Obsługa

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,1 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent

Mieszanina 1:1 EDTA (zapas: 0,05%) i trypsyny (zapas: 0,1%) musi być przygotowana za każdym razem przed odłączeniem komórek przy użyciu PBS bez Ca²⁺ i Mg²⁺, aby zapewnić fizjologiczną osmolarność. Gotowe do użycia mieszaniny trypsyny/EDTA nie są zalecane, ponieważ mogą powodować zbrylanie się komórek. Alternatywnie można użyć TrypLE Express (Life Technologies) zamiast trypsyny/EDTA. Należy postępować zgodnie z protokołem producenta.

Subculturing

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Seeding density

 $2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$

Komórki OE33 | 305458**Fluid renewal** 1 do 2 razy w tygodniu**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere** 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Komórki OE33 | 305458

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.