

Komórki O-342 | 500305**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa O-342 pochodzi z guza jajnika szczura i jest szeroko stosowana w badaniach nad rakiem, szczególnie w badaniach dotyczących raka jajnika i oporności na chemioterapię. Linia ta charakteryzuje się zdolnością do wzrostu w monowarstwie i wejścia w fazę logarytmiczną około 24 godziny po wysianiu, przy czym czas podwojenia populacji komórek wynosi około 24 godziny. Linia komórkowa O-342 służy jako linia macierzysta dla kilku podlinii, w tym podlinii O-342/DDP odpornej na cisplatynę, która została opracowana poprzez stopniowe zwiększanie stężenia cisplatyny in vitro.

Komórki O-342 wykazują heteroploidalność w swojej strukturze chromosomowej, co kontrastuje z kariotypem zbliżonym do diploidalnego obserwowanym w podlinii O-342/DDP. Ta zmiana kariotypowa wskazuje na presję selekcyjną wywieraną przez ciągłą ekspozycję na cisplatynę, która eliminuje subpopulację wrażliwą na cisplatynę, powodując dominację komórek opornych. Analizy biochemiczne wykazały, że komórki O-342/DDP wykazują 33-krotny wzrost oporności na cisplatynę w porównaniu z komórkami macierzystymi O-342. Oporność ta znajduje odzwierciedlenie w wartościach ID50, gdzie komórki O-342/DDP mają ID50 wynoszące 33 μM w porównaniu z 1 μM w komórkach O-342.

Dalsze badania wykazały, że komórki O-342/DDP mają znacznie wyższy poziom całkowitego glutationu wewnątrzkomórkowego (GSH+GSSG) wynoszący 3,04 nmol/10⁶ komórek w porównaniu z 1,37 nmol/10⁶ komórek w komórkach O-342. Zwiększony poziom glutationu wiąże się z lepszymi zdolnościami detoksykacyjnymi, co przyczynia się do chemoodporności obserwowanej w komórkach O-342/DDP. Ponadto po leczeniu cisplatyną, międzyłańcuchowe wiązania krzyżowe DNA i pęknięcia pojedynczej nici są znacznie wyższe w komórkach macierzystych O-342 niż w opornych komórkach O-342/DDP, co wskazuje na zwiększoną zdolność naprawy DNA w odpornej podlinii.

Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa O-342 wraz z jej oporną na cisplatynę podlinią O-342/DDP stanowi solidny model do badania mechanizmów oporności na chemioterapię w raku jajnika. Linie te są nieocenione w identyfikacji potencjalnych celów terapeutycznych i opracowywaniu strategii przezwyciężania oporności na chemioterapię, poprawiając w ten sposób wyniki leczenia pacjentek z rakiem jajnika.

Organism	Szczur
Tissue	Jajnik
Disease	Gruzołakorak

Charakterystyka

Breed/Subspecies	BDIx
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka

Komórki O-342 | 500305

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation O-342 (numer katalogowy Cytion 500305)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_5847

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:6

Fluid renewal 2 do 3 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.

Komórki O-342 | 500305

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 próbówki 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 zawieszonych, 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.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki O-342 | 500305

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 / Profil genetyczny / HLA

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.

Profil STR

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