

Клетки PM-LGSOC-01 | 300305

Обща информация

Description

PM-LGSOC-01 е клетъчна линия, получена от перитонеална метастаза на нискостепенен серозен овариален карцином (LGSOC). Тази клетъчна линия е създадена като част от цялостен изследователски модел, който включва и ксенографт, получен от пациент (PDX). Създаването на PM-LGSOC-01 включва ортотопично присаждане чрез субперитонеално инжектиране на туморна каша в SCID/Beige мишки, което води до модел на трансплантируема перитонеална метастаза (PM)-PDX в ранен стадий. Хистологичният анализ потвърди, че както PM-PDX, така и PM-LGSOC-01 клетките запазват микропапиларния и крибриформния модел на растеж, характерен за LGSOC, с туморни пъпки и експресия на маркери като PAX8 и WT1. Генетичният анализ показва, че първичният тумор, PM и клетъчната линия имат обща мутация на KRAS с.35 G > T (p.Gly12Val), което прави този модел подходящ за изучаване на прогресията на LGSOC и отговора на лечението, особено във връзка с MAPK пътя.

PM-LGSOC-01 притежава ключови характеристики, подходящи за предклинични изследвания. Времето за удвояване е приблизително 42 часа в ранните пасажи, което намалява до 23 часа в по-късните етапи на клетъчната култура, и е поддържано в продължение на над 100 пасажа *in vitro*. Клетъчната линия демонстрира епителна морфология с подобна на епител организация и висока клетъчна адхезия. Тя обаче показва ограничен отговор към химиотерапия на основата на платина, но е силно чувствителна към паклитаксел (IC50: 6,3 ± 2,2 nM). Освен това PM-LGSOC-01 е особено чувствителен към инхибитора MEK траметиниб (IC50: 7,2 ± 0,5 nM), както *in vitro*, така и *in vivo*, което отразява влиянието на мутацията KRAS върху терапевтичните отговори.

PM-LGSOC-01 служи като ценен инструмент за изследване на LGSOC, особено в контекста на лекарствената резистентност, туморогенността и чувствителността към целеви терапии като инхибиторите на MEK. Използването му за разработване на персонализирани подходи за лечение на нискостепенния серозен овариален карцином е от решаващо значение, като се има предвид слабата реакция на LGSOC на конвенционалната химиотерапия в сравнение с високостепенния серозен овариален карцином (HGSOC).

Organism Човек

Tissue Яйчник

Disease Нисък клас серозен овариален карцином

Metastatic site Перитонеум

Synonyms M28/2

Характеристики

Age 60 години

Gender Жена

Клетки PM-LGSOC-01 | 300305

Morphology Подобни на епител**Growth properties** Придържащи се

Регулаторни данни

Citation PM-LGSOC-01 (каталожен номер 300305 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_xx32

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация на KRAS с.35 G > T (p.(Gly12Val))

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA**Dissociation Reagent** Трипсин/EDTA и свободен от Ca²⁺/Mg²⁺ фосфатен буфер**Doubling time** 42 часа**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Seeding density** 1×10^4 клетки/cm²

Клетки PM-LGSOC-01 | 300305

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки PM-LGSOC-01 | 300305

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.