

Buňky PM-LGSOC-01 | 300305

Obecné informace

Description

PM-LGSOC-01 je buněčná linie odvozená z peritoneální metastázy serózního karcinomu ovaria nízkého stupně (LGSOC). Tato buněčná linie byla vytvořena jako součást komplexního výzkumného modelu, který zahrnoval také xenograft odvozený od pacienta (PDX). Vytvoření PM-LGSOC-01 zahrnovalo ortotopické připojení prostřednictvím subperitoneální injekce nádorové kaše u myší SCID/Beige, což vedlo k vytvoření modelu transplantovatelné peritoneální metastázy (PM)-PDX v raném stadiu. Histologická analýza potvrdila, že jak buňky PM-PDX, tak PM-LGSOC-01 si zachovaly mikropapilární a kribiformní růstový vzorec typický pro LGSOC, s nádorovými pupeny a expresí markerů, jako jsou PAX8 a WT1. Genetická analýza ukázala, že primární nádor, PM a buněčná linie sdílejí mutaci KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), což činí tento model relevantním pro studium progresu LGSOC a odpovědi na léčbu, zejména ve vztahu k dráze MAPK.

PM-LGSOC-01 vykazuje klíčové vlastnosti důležité pro preklinický výzkum. Jeho doba zdvojení je přibližně 42 hodin v raných pasážích, která se v pozdějších fázích buněčné kultivace snížila na 23 hodin, a byl udržován po více než 100 pasáží in vitro. Buněčná linie vykazuje epitelovou morfologii s uspořádáním podobným epitelu a vysokou adhezí buněk. Vykazuje však omezenou odpověď na chemoterapii založenou na platině, ale je vysoce citlivá na paklitaxel (IC₅₀: 6,3 ± 2,2 nM). Kromě toho je PM-LGSOC-01 obzvláště citlivý na inhibitor MEK trametinib (IC₅₀: 7,2 ± 0,5 nM), a to jak in vitro, tak in vivo, což odráží vliv mutace KRAS na léčebnou odpověď.

PM-LGSOC-01 slouží jako cenný nástroj pro zkoumání LGSOC, zejména v kontextu lékové rezistence, tumorigenity a citlivosti na cílenou léčbu, jako jsou inhibitory MEK. Jeho využití při vývoji personalizovaných léčebných přístupů pro low-grade serózní karcinom ovaria je zásadní vzhledem k nízké citlivosti LGSOC na konvenční chemoterapii ve srovnání s high-grade serózním karcinomem ovaria (HGSOC).

Organism

Člověk

Tissue

Ovarium

Disease

Nízký stupeň serózního karcinomu ovaria

Metastatic site

Peritoneum

Synonyms

M28/2

Charakteristika

Age

60 let

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Buňky PM-LGSOC-01 | 300305

Regulační údaje

Citation	PM-LGSOC-01 (katalogové číslo Cytion 300305)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_xx32
Depositor	Olivier De Wever

Biomolekulární data

Mutational profile	Mutace KRAS c.35 G > T (p.(Gly12Val))
--------------------	---------------------------------------

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Trypsin/EDTA a volný fosfátový pufr Ca ²⁺ /Mg ²⁺
Doubling time	42 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředíte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:20
Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²

Buňky PM-LGSOC-01 | 300305

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Buňky PM-LGSOC-01 | 300305**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

CSF1PO: 10,11
D13S317: 12,13
D16S539: 10,13
D5S818: 11,12
D7S820: 9,10
TH01: 6,7
TPOX: 8,10
vWA: 15,17
D3S1358: 14,15
D21S11: 28,32
D18S51: 12,17
D8S1179: 13,14
FGA: 23,24
D2S1338: 24,25
D19S433: 12,16
PEZ6: OVCAR3