

Κύτταρα PM-LGSOC-01 | 300305

Γενικές πληροφορίες

Description

Η PM-LGSOC-01 είναι μια κυτταρική σειρά που προέρχεται από περιτοναϊκή μετάσταση ενός χαμηλού βαθμού ορώδους καρκινώματος των ωθηκών (LGSOC). Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε ως μέρος ενός ολοκληρωμένου ερευνητικού μοντέλου που περιλάμβανε επίσης ένα ξενομόσχευμα προερχόμενο από ασθενή (PDX). Η δημιουργία του PM-LGSOC-01 περιελάμβανε ορθοτοπικό μόσχευμα μέσω υποπεριτοναϊκής έγχυσης πολτού όγκου σε ποντίκια SCID/Beige, οδηγώντας σε ένα μοντέλο μεταμοσχεύσιμης περιτοναϊκής μετάστασης (PM)-PDX σε πρώιμο στάδιο. Η ιστολογική ανάλυση επιβεβαίωσε ότι τόσο τα κύτταρα PM-PDX όσο και τα κύτταρα PM-LGSOC-01 διατήρησαν τα μικροθαλαμοειδή και τριχοειδή πρότυπα ανάπτυξης που είναι τυπικά για την LGSOC, με εκβλάστηση του όγκου και έκφραση δεικτών όπως οι PAX8 και WT1. Η γενετική ανάλυση έδειξε ότι ο πρωτοπαθής όγκος, το PM και η κυτταρική σειρά μοιράζονται μια μετάλλαξη KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), καθιστώντας αυτό το μοντέλο σχετικό με τη μελέτη της εξέλιξης και της θεραπευτικής ανταπόκρισης του LGSOC, ιδίως σε σχέση με το μονοπάτι MAPK.

Το PM-LGSOC-01 παρουσιάζει βασικά χαρακτηριστικά σχετικά με την προκλινική έρευνα. Έχει χρόνο διπλασιασμού περίπου 42 ωρών σε πρώιμα περάσματα, ο οποίος μειώθηκε σε 23 ώρες σε μεταγενέστερα στάδια κυτταροκαλλιέργειας, και έχει διατηρηθεί για πάνω από 100 in vitro περάσματα. Η κυτταρική σειρά επιδεικνύει επιθηλιακή μορφολογία με οργάνωση που μοιάζει με επιθήλιο και υψηλή προσκόλληση κυττάρου-κυττάρου. Ωστόσο, παρουσιάζει περιορισμένη ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα, αλλά είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στην πακλιταξέλη (IC50: 6,3 ± 2,2 nM). Επιπλέον, το PM-LGSOC-01 είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στον αναστολέα MEK trametinib (IC50: 7,2 ± 0,5 nM), τόσο in vitro όσο και in vivo, γεγονός που αντανάκλα την επίδραση της μετάλλαξης KRAS στις θεραπευτικές αποκρίσεις.

Το PM-LGSOC-01 χρησιμεύει ως πολύτιμο εργαλείο για τη διερεύνηση της LGSOC, ιδίως στο πλαίσιο της ανθεκτικότητας στα φάρμακα, της καρκινικότητας και της ευαισθησίας σε στοχευμένες θεραπείες όπως οι αναστολείς της MEK. Η χρήση του στην ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων για το χαμηλού βαθμού ορώδες καρκίνωμα των ωθηκών είναι κρίσιμη, δεδομένης της φτωχής ανταπόκρισης του LGSOC στη συμβατική χημειοθεραπεία σε σύγκριση με το υψηλού βαθμού ορώδες καρκίνωμα των ωθηκών (HGSOC).

Organism Ανθρώπινο

Tissue Ωοθήκη

Disease Χαμηλού βαθμού ορώδες καρκίνωμα των ωθηκών

Metastatic site Περιτόναιο

Synonyms M28/2

Χαρακτηριστικά

Age 60 χρόνια

Gender Γυναίκα

Κύτταρα PM-LGSOC-01 | 300305

Morphology Επιθηλιοειδής**Growth properties** Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation PM-LGSOC-01 (αριθμός καταλόγου Cytion 300305)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_xx32

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA**Dissociation Reagent** Τρυψίνη/EDTA και ελεύθερο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών Ca²⁺/Mg²⁺**Doubling time** 42 ώρες**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Seeding density** 1×10^4 κύτταρα/cm²

Κύτταρα PM-LGSOC-01 | 300305**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα PM-LGSOC-01 | 300305

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.