

PM-LGSOC-01 rakud | 300305

Üldine teave

Description

PM-LGSOC-01 on rakuliin, mis on saadud madala seroosse munasarjakartsinoomi (LGSOC) peritoneaalsetest metastaasidest. See rakuliin loodi osana terviklikust uurimismudelist, mis hõlmas ka patsiendist saadud ksenotransplantaati (PDX). PM-LGSOC-01 loomine hõlmas ortotoopilist siirdamist subperitoneaalse kasvajakudeli süstimise teel SCID/Beige hiirtesse, mis viis varajases staadiumis siirdatava peritoneaalse metastaasi (PM)-PDX-mudeli tekkimiseni. Histoloogiline analüüs kinnitas, et nii PM-PDX kui ka PM-LGSOC-01 rakud säilitasid LGSOC-le iseloomulikke mikropapillaarsed ja ribriformsed kasvumustrid, koos kasvajakude pungetumisega ja selliste markerite nagu PAX8 ja WT1 ekspressiooniga. Geneetiline analüüs näitas, et primaarsel kasvajas, PM-il ja rakuliinil on ühine KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) mutatsioon, mis muudab selle mudeli asjakohaseks LGSOC-i progresseerumise ja ravivastuse uurimiseks, eriti seoses MAPK-radaga.

PM-LGSOC-01 omab prekliiniliste uuringute jaoks olulisi põhiomadusi. Selle kahekordistumisaeg on varajases faasis ligikaudu 42 tundi, mis vähenes 23 tunnini hilisemates rakukultuuride etappides, ja seda on säilitatud üle 100 in vitro faasi. Rakuliinil on epiteeli morfoloogia koos epiteeli sarnase organismi ja suure rakkude-rakkude adhesiivsusega. Siiski reageerib see piiratud määral platiinapõhisele kemoteraapiale, kuid on väga tundlik paklitakseeli suhtes (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Lisaks on PM-LGSOC-01 eriti tundlik MEK-inhibiitori trametiniibi suhtes (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM) nii in vitro kui ka in vivo, mis näitab KRAS-mutatsiooni mõju ravivastusele.

PM-LGSOC-01 on väärtuslik vahend LGSOC-i uurimiseks, eriti ravimresistentsuse, kasvajakudise ja tundlikkuse suhtes sihtotstarbeliste ravimeetodite, nagu MEK-inhibiitorid, kontekstis. Selle kasutamine madala seroosse munasarjakartsinoomi personaliseeritud ravimeetodite väljatöötamisel on kriitilise tähtsusega, arvestades LGSOC-i kehva tundlikkust tavapärase keemiaravi suhtes võrreldes kõrge seroosse munasarjakartsinoomiga (HGSOC).

Organism	Inimene
Tissue	Munasarjad
Disease	Madala astme seroosne munasarjakartsinoom
Metastatic site	Peritoneum
Synonyms	M28/2

Omadused

Age	60 aastat
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed

PM-LGSOC-01 rakud | 300305

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation PM-LGSOC-01 (Cytioni katalooginumber 300305)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_xx32

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAga**Dissociation Reagent** Trypsiin/EDTA ja Ca²⁺/Mg²⁺ vaba fosfaatpuhver**Doubling time** 42 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 1 x 10⁴ rakku/cm²

PM-LGSOC-01 rakud | 300305

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

PM-LGSOC-01 rakud | 300305

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.