

PM-LGSOC-01 Solut | 300305

Yleisiä tietoja

Description

PM-LGSOC-01 on solulinja, joka on peräisin matala-asteisen seroosisen munasarjakarsinooman (LGSOC) peritoneaalimetastaasista. Tämä solulinja perustettiin osana kattavaa tutkimusmallia, johon kuului myös potilasperäinen ksenograft (PDX). PM-LGSOC-01:n luomisessa käytettiin ortotooppista siirtoa SCID/Beige-hiiriin subperitoneaalisen kasvainlietteen injektion avulla, mikä johti varhaisvaiheen siirtokelpoisen peritoneaalimetastaasin (PM)-PDX-malliin. Histologinen analyysi vahvisti, että sekä PM-PDX- että PM-LGSOC-01-solut säilyttivät LGSOC:lle tyypilliset mikropapillaariset ja ristikkäiset kasvumallit, joihin liittyi kasvaimen nuppuuntumista ja PAX8:n ja WT1:n kaltaisten merkkiaineiden ilmentymistä. Geneettinen analyysi osoitti, että primaarikasvaimessa, PM:ssä ja solulinjassa on yhteinen KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) -mutaatio, minkä vuoksi tämä malli on merkityksellinen LGSOC:n etenemisen ja hoitovasteen tutkimisessa erityisesti MAPK-reitin osalta.

PM-LGSOC-01:llä on prekliinisen tutkimuksen kannalta keskeiset ominaisuudet. Sen kaksinkertaistumisaika on noin 42 tuntia varhaisissa soluvaiheissa, mikä lyheni 23 tuntiin soluviljelyn myöhemmissä vaiheissa, ja se on säilynyt yli 100 in vitro -passagea. Solulinjalla on epiteelimorfologia, epiteelin kaltainen organisaatio ja korkea solu-solu-adheesio. Se reagoi kuitenkin vain vähän platinapohjaiseen kemoterapiaan, mutta on erittäin herkkä paklitakselille (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Lisäksi PM-LGSOC-01 on erityisen herkkä MEK-inhibiittorille trametinibille (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM) sekä in vitro että in vivo, mikä kuvastaa KRAS-mutaation vaikutusta hoitovasteeseen.

PM-LGSOC-01 toimii arvokkaana välineenä LGSOC:n tutkimisessa, erityisesti lääkeresistenssin, kasvainriskin ja herkkyuden yhteydessä kohdennetuille hoidoille, kuten MEK:n estäjille. Sen käyttö matala-asteisen seroosisen munasarjakarsinooman yksilöllisten hoitomenetelmien kehittämisessä on ratkaisevan tärkeää, kun otetaan huomioon LGSOC:n heikko vaste tavanomaiselle kemoterapialle verrattuna korkea-asteiseen seroosiseen munasarjakarsinoomaan (HGSOC).

Organism

Ihminen

Tissue

Munasarja

Disease

Matala-asteinen munasarjakarsinooma

Metastatic site

Peritoneum

Synonyms

M28/2

Ominaisuudet

Age

60 vuotta

Gender

Nainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

PM-LGSOC-01 Solut | 300305

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation PM-LGSOC-01 (Cytionin luettelonumero 300305)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_xx32

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Dissociation Reagent Trypsiini/EDTA ja vapaa Ca²⁺/Mg²⁺ -fosfaattipuskuri

Doubling time 42 tuntia

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Seeding density 1×10^4 solua/cm²

PM-LGSOC-01 Solut | 300305

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

PM-LGSOC-01 Solut | 300305

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.