

PM-LGSOC-01 sejtek | 300305

Általános információk

Description

A PM-LGSOC-01 egy alacsony fokú szerózus petefészekrák (LGSOC) peritoneális metasztázisából származó sejtvonal. Ezt a sejtvonalat egy átfogó kutatási modell részeként hozták létre, amely egy betegből származó xenograftot (PDX) is tartalmazott. A PM-LGSOC-01 létrehozása ortotópos beültetéssel történt, SCID/Beige egerekbe szubperitoneális tumoriszap befecskendezésével, ami egy korai stádiumban lévő transzplantálható peritoneális metasztázis (PM)-PDX modellhez vezetett. A szövettani elemzés megerősítette, hogy mind a PM-PDX, mind a PM-LGSOC-01 sejtek megtartották az LGSOC-ra jellemző mikropapillaris és cribriform növekedési mintázatot, a tumor bimbózásával és olyan markerek expressziójával, mint a PAX8 és a WT1. A genetikai elemzés kimutatta, hogy a primer tumor, a PM és a sejtvonal közös KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) mutációval rendelkezik, így ez a modell releváns az LGSOC progressziójának és a kezelésre adott válasznak a tanulmányozására, különösen a MAPK útvonallal kapcsolatban.

A PM-LGSOC-01 a preklinikai kutatások szempontjából lényeges kulcsfontosságú tulajdonságokkal rendelkezik. A korai passzázatokban a duplázódási idő megközelítőleg 42 óra, ami a sejtkultúra későbbi szakaszaiban 23 órára csökkent, és több mint 100 in vitro passzázsra keresztül tartható fenn. A sejtvonal epiteliális morfológiát mutat epitelszerű szerveződéssel és magas sejt-sejt adhézióval. Ugyanakkor korlátozott választ mutat a platina-alapú kemoterápiára, de rendkívül érzékeny a paclitaxelre (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Emellett a PM-LGSOC-01 különösen érzékeny a MEK-gátló trametinibre (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), mind in vitro, mind in vivo, ami a KRAS-mutációnak a terápiás válaszra gyakorolt hatását tükrözi.

A PM-LGSOC-01 értékes eszközként szolgál az LGSOC vizsgálatához, különösen a gyógyszerrezisztencia, a tumorigenitás és a célzott terápiákra, például a MEK-inhibitorokra való érzékenység összefüggésében. Használata az alacsony fokú szerózus petefészekrák személyre szabott kezelési megközelítéseinek kidolgozásában kritikus fontosságú, tekintettel arra, hogy az LGSOC a hagyományos kemoterápiára rosszul reagál a magas fokú szerózus petefészekrákhoz (HGSOC) képest.

Organism

Emberi

Tissue

Petefészek

Disease

Alacsony fokú serosus petefészek karcinóma

Metastatic site

Peritoneum

Synonyms

M28/2

Jellemzők

Age

60 év

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

PM-LGSOC-01 sejtek | 300305

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)**Supplements** A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni**Dissociation Reagent** Trypszin/EDTA és Ca²⁺/Mg²⁺ szabad foszfát puffer**Doubling time** 42 óra**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 1×10^4 sejt/cm²

PM-LGSOC-01 sejtek | 300305

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

PM-LGSOC-01 sejtek | 300305

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.