

PM-LGSOC-01 šūnas | 300305

Vispārīga informācija

Description

PM-LGSOC-01 ir šūnu līnija, kas iegūta no zemas pakāpes serozas olnīcu karcinomas (LGSOC) peritoneālās metastāzes. Šī šūnu līnija tika izveidota kā daļa no visaptveroša pētniecības modeļa, kas ietvēra arī no pacienta iegūtu ksenotransplantātu (PDX). PM-LGSOC-01 izveidošana ietvēra ortotopisku pārstādīšanu, subperitoneāli injicējot audzēja suspensiju SCID/Beige pelēm, tādējādi izveidojot agrīnas stadijas transplantējamu peritoneālās metastāzes (PM)-PDX modeli. Histoloģiskā analīze apstiprināja, ka gan PM-PDX, gan PM-LGSOC-01 šūnas saglabāja LGSOC raksturīgo mikropapilāru un kribriformas augšanas modeli ar audzēja pumpuru veidošanos un tādu marķieru kā PAX8 un WT1 ekspresiju. Ģenētiskā analīze parādīja, ka primārajam audzējam, PM un šūnu līnijai ir kopīga KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) mutācija, padarot šo modeli piemērotu LGSOC progresēšanas un atbildes reakcijas uz ārstēšanu izpētei, īpaši saistībā ar MAPK ceļu.

PM-LGSOC-01 piemīt galvenās īpašības, kas ir svarīgas pirmsklīniskajiem pētījumiem. Tās dubultošanās laiks ir aptuveni 42 stundas agrīnās šūnu kultūras stadijās, kas vēlākos šūnu kultūras posmos samazinājās līdz 23 stundām, un tā ir izturējusi vairāk nekā 100 in vitro pasāžas. Šai šūnu līnijai piemīt epitēlija morfoloģija ar epitēlijveidīgu organizāciju un augstu šūnu adhēziju. Tomēr tai ir ierobežota reakcija uz ķīmijterapiju, kas balstīta uz platīnu, bet tā ir ļoti jutīga pret paklitakselu (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Turklāt PM-LGSOC-01 ir īpaši jutīga pret MEK inhibitoru trametinību (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM) gan in vitro, gan in vivo, kas atspoguļo KRAS mutācijas ietekmi uz terapeitisko atbildes reakciju.

PM-LGSOC-01 kalpo kā vērtīgs rīks LGSOC izpētei, jo īpaši saistībā ar rezistenci pret zālēm, audzēja rezistenci un jutību pret mērķterapiju, piemēram, MEK inhibitoriem. Tā izmantošana, izstrādājot personalizētas ārstēšanas pieejas zemas pakāpes serozas olnīcu karcinomas ārstēšanai, ir ļoti svarīga, ņemot vērā LGSOC slikto atsaucību uz parasto ķīmijterapiju salīdzinājumā ar augstas pakāpes serozas olnīcu karcinomas (HGSOC) ārstēšanu.

Organism Cilvēks**Tissue** Olnīcas**Disease** Zemas pakāpes olnīcu karcinoma**Metastatic site** Peritoneja**Synonyms** M28/2

Raksturojums

Age 60 gadi**Gender** Sievietes**Morphology** Epitēlijveidīgs

PM-LGSOC-01 šūnas | 300305

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

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

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Tripsīns/EDTA un Ca²⁺/Mg²⁺ brīvais fosfāta buferšķīdums**Doubling time** 42 stundas**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm²

PM-LGSOC-01 šūnas | 300305

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

PM-LGSOC-01 šūnas | 300305

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.