

Komórki PM-LGSOC-01 | 300305

Informacje ogólne

Description

PM-LGSOC-01 to linia komórkowa pochodząca z przerzutów do otrzewnej surowiczego raka jajnika o niskim stopniu złośliwości (LGSOC). Ta linia komórkowa została utworzona jako część kompleksowego modelu badawczego, który obejmował również ksenograft pochodzący od pacjentki (PDX). Stworzenie PM-LGSOC-01 polegało na ortotopowym wszczepieniu poprzez podotrzewnowe wstrzyknięcie zawiesiny guza myszom SCID/Beige, co doprowadziło do powstania wczesnego stadium przeszczepialnego modelu przerzutów do otrzewnej (PM) - PDX. Analiza histologiczna potwierdziła, że zarówno komórki PM-PDX, jak i PM-LGSOC-01 zachowały typowe dla LGSOC mikropęcherzykowe i żebrowe wzorce wzrostu, z pączkowaniem guza i ekspresją markerów takich jak PAX8 i WT1. Analiza genetyczna wykazała, że guz pierwotny, PM i linia komórkowa mają wspólną mutację KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), co czyni ten model istotnym dla badania progresji LGSOC i odpowiedzi na leczenie, szczególnie w odniesieniu do szlaku MAPK.

PM-LGSOC-01 wykazuje kluczowe cechy istotne dla badań przedklinicznych. Ma czas podwojenia wynoszący około 42 godzin we wczesnych pasażach, który zmniejszył się do 23 godzin w późniejszych etapach hodowli komórkowej i był utrzymywany przez ponad 100 pasaży in vitro. Linia komórkowa wykazuje morfologię nabłonkową z organizacją podobną do nabłonka i wysoką adhezją komórka-komórka. Wykazuje jednak ograniczoną odpowiedź na chemioterapię opartą na platynie, ale jest bardzo wrażliwa na paklitaksel (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Ponadto PM-LGSOC-01 jest szczególnie wrażliwy na inhibitor MEK trametynib (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), zarówno in vitro, jak i in vivo, co odzwierciedla wpływ mutacji KRAS na odpowiedzi terapeutyczne.

PM-LGSOC-01 służy jako cenne narzędzie do badania LGSOC, szczególnie w kontekście oporności na leki, nowotworowości i wrażliwości na terapie celowane, takie jak inhibitory MEK. Jego zastosowanie w opracowywaniu spersonalizowanych metod leczenia surowiczego raka jajnika o niskim stopniu złośliwości ma kluczowe znaczenie, biorąc pod uwagę słabą reakcję LGSOC na konwencjonalną chemioterapię w porównaniu z surowiczym rakiem jajnika o wysokim stopniu złośliwości (HGSOC).

Organism

Człowiek

Tissue

Jajnik

Disease

Rak jajnika o niskim stopniu złośliwości

Metastatic site

Otrzewna

Synonyms

M28/2

Charakterystyka

Age

60 lat

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do nabłonka

Komórki PM-LGSOC-01 | 300305

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation PM-LGSOC-01 (numer katalogowy Cytion 300305)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_xx32**Depositor** Olivier De Weaver

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Trypsyna/EDTA i wolny od Ca²⁺/Mg²⁺ bufor fosforanowy**Doubling time** 42 godziny**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:20

Komórki PM-LGSOC-01 | 300305

Seeding
density 1×10^4 komórek/cm²Freeze
medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and
Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation
Atmosphere37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Komórki PM-LGSOC-01 | 300305**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

CSF1PO: 10,11
D13S317: 12,13
D16S539: 10,13
D5S818: 11,12
D7S820: 9,10
TH01: 6,7
TPOX: 8,10
vWA: 15,17
D3S1358: 14,15
D21S11: 28,32
D18S51: 12,17
D8S1179: 13,14
FGA: 23,24
D2S1338: 24,25
D19S433: 12,16
PEZ6: OVCAR3