

Bunky PM-LGSOC-01 | 300305**Všeobecné informácie****Description**

PM-LGSOC-01 je bunková línia odvodená z peritoneálnych metastáz serózneho karcinómu vaječníkov nízkeho stupňa (LGSOC). Táto bunková línia bola vytvorená ako súčasť komplexného výskumného modelu, ktorý zahŕňal aj xenotransplantát odvodený od pacienta (PDX). Vytvorenie PM-LGSOC-01 zahŕňalo ortotopické prirastenie prostredníctvom subperitoneálnej injekcie nádorovej suspenzie do myší SCID/Beige, čo viedlo k vytvoreniu modelu včasného štádia transplantovateľných peritoneálnych metastáz (PM)-PDX. Histologická analýza potvrdila, že bunky PM-PDX aj PM-LGSOC-01 si zachovali mikropapilárny a kribiformný rastový vzor typický pre LGSOC s nádorovým pučaním a expresiou markerov, ako sú PAX8 a WT1. Genetická analýza ukázala, že primárny nádor, PM a bunková línia majú spoločnú mutáciu KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), vďaka čomu je tento model vhodný na štúdium progresie LGSOC a odpovede na liečbu, najmä vo vzťahu k dráhe MAPK.

PM-LGSOC-01 vykazuje kľúčové vlastnosti dôležité pre predklinický výskum. Má zdvojovací čas približne 42 hodín v skorých pasážach, ktorý sa v neskorších štádiách bunkovej kultúry skrátil na 23 hodín, a udržiava sa viac ako 100 pasáží in vitro. Bunková línia vykazuje epitelovú morfológiu s organizáciou podobnou epitelu a vysokou adhéziou buniek. Vykazuje však obmedzenú odpoveď na chemoterapiu na báze platiny, ale je vysoko citlivá na paklitaxel (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Okrem toho je PM-LGSOC-01 obzvlášť citlivý na inhibítor MEK trametinib (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), a to in vitro aj in vivo, čo odráža vplyv mutácie KRAS na terapeutickú odpoveď.

PM-LGSOC-01 slúži ako cenný nástroj na skúmanie LGSOC, najmä v kontexte liekovej rezistencie, nádorovosti a citlivosti na cielené terapie, ako sú inhibítory MEK. Jeho použitie pri vývoji personalizovaných liečebných prístupov pre low-grade serózny karcinóm ovária je veľmi dôležité vzhľadom na slabú reakciu LGSOC na konvenčnú chemoterapiu v porovnaní s high-grade seróznym karcinómom ovária (HGSOC).

Organism

Ľudské

Tissue

Vaječník

Disease

Nízkestupňový serózny karcinóm ovária

Metastatic site

Peritoneum

Synonyms

M28/2

Charakteristika**Age**

60 rokov

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

Bunky PM-LGSOC-01 | 300305**Regulačné údaje**

Citation	PM-LGSOC-01 (katalógové číslo Cytion 300305)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_xx32

Biomolekulárne údaje

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

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Trypsín/EDTA a Ca ²⁺ /Mg ²⁺ voľný fosfátový pufr
Doubling time	42 hodín
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1 x 10 ⁴ buniek/cm ²
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky PM-LGSOC-01 | 300305

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky PM-LGSOC-01 | 300305

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.