

PM-LGSOC-01 Hücreler | 300305

Genel bilgi

Description

PM-LGSOC-01, düşük dereceli seröz over karsinomunun (LGSOC) peritoneal metastazından türetilmiş bir hücre hattıdır. Bu hücre hattı, hastadan türetilmiş bir ksenograft (PDX) de içeren kapsamlı bir araştırma modelinin parçası olarak kurulmuştur. PM-LGSOC-01'in oluşturulması, SCID/Beige farelerde subperitoneal tümör bulamacı enjeksiyonu yoluyla ortotopik aşılamaı içerdi ve erken evre nakledilebilir peritoneal metastaz (PM)-PDX modeline yol açtı. Histolojik analiz, hem PM-PDX hem de PM-LGSOC-01 hücrelerinin, tümör tomurcuklanması ve PAX8 ve WT1 gibi belirteçlerin ekspresyonu ile LGSOC'a özgü mikropapiller ve kribriform büyüme modellerini koruduğunu doğrulamıştır. Genetik analiz, primer tümör, PM ve hücre hattının KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) mutasyonunu paylaştığını göstererek bu modeli, özellikle MAPK yolağı ile ilişkili olarak LGSOC ilerlemesi ve tedavi yanıtını incelemek için uygun hale getirmiştir.

PM-LGSOC-01, klinik öncesi araştırmalarla ilgili temel özellikler sergilemektedir. Erken pasajlarda yaklaşık 42 saatlik bir ikiye katlanma süresine sahiptir, bu süre hücre kültürünün sonraki aşamalarında 23 saate düşmüştür ve 100'den fazla in vitro pasaj için muhafaza edilmiştir. Hücre hattı, Epitel benzeri organizasyon ve yüksek hücre-hücre yapışması ile epitelyal morfoloji gösterir. Bununla birlikte, platin bazlı kemoterapiye sınırlı yanıt gösterir ancak paklitaksel karşı oldukça duyarlıdır (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Ayrıca, PM-LGSOC-01 hem in vitro hem de in vivo olarak MEK inhibitörü trametinibe (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM) özellikle duyarlıdır ve KRAS mutasyonunun terapötik yanıtlar üzerindeki etkisini yansıtır.

PM-LGSOC-01, özellikle ilaç direnci, tümörjenisite ve MEK inhibitörleri gibi hedefe yönelik tedavilere duyarlılık bağlamında LGSOC'yi araştırmak için değerli bir araç olarak hizmet etmektedir. Yüksek dereceli seröz over karsinomuna (HGSOC) kıyasla LGSOC'nin konvansiyonel kemoterapiye zayıf yanıt verdiği göz önüne alındığında, düşük dereceli seröz over karsinomu için kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları geliştirmede kullanımı kritik önem taşımaktadır.

Organism

İnsan

Tissue

Yumurtalık

Disease

Düşük dereceli seröz over karsinomu

Metastatic site

Periton

Synonyms

M28/2

Özellikler

Age

60 yıl

Gender

Kadın

Morphology

Epitel benzeri

PM-LGSOC-01 Hücreler | 300305

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

PM-LGSOC-01 (Cytion katalog numarası 300305)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_xx32

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile

KRAS c.35 G > T (p.(Gly12Val)) mutasyonu

Elleçleme

Culture Medium

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a)

Supplements

Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin

Dissociation Reagent

Trypsin/EDTA ve Ca²⁺/Mg²⁺ içermeyen fosfat tamponu

Doubling time

42 saat

Subculturing

Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density

1 x 10⁴ hücre/cm²

PM-LGSOC-01 Hücreler | 300305

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

PM-LGSOC-01 Hücreler | 300305

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.