

## PM-LGSOC-01 rakud | 300305

## Üldine teave

## Description

PM-LGSOC-01 on rakuliin, mis on saadud madala seroosse munasarjakartsinoomi (LGSOC) peritoneaalsetest metastaasidest. See rakuliin loodi osana terviklikust uurimismudelist, mis hõlmas ka patsiendist saadud ksenotransplantaati (PDX). PM-LGSOC-01 loomine hõlmas ortotoopilist siirdamist subperitoneaalse kasvajakudeli süstimise teel SCID/Beige hiirtesse, mis viis varajases staadiumis siirdatava peritoneaalse metastaasi (PM)-PDX-mudeli tekkimiseni. Histoloogiline analüüs kinnitas, et nii PM-PDX kui ka PM-LGSOC-01 rakud säilitasid LGSOC-le iseloomulikke mikropapillaarseid ja ribriiformseid kasvustruktuure, koos kasvajakude pungetumise ja selliste markerite nagu PAX8 ja WT1 ekspressiooniga. Geneetiline analüüs näitas, et primaarsel kasvajas, PM-il ja rakuliinil on ühine KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) mutatsioon, mis muudab selle mudeli asjakohaseks LGSOC-i progresseerumise ja ravivastuse uurimiseks, eriti seoses MAPK-radaga.

PM-LGSOC-01 omab prekliiniliste uuringute jaoks olulisi põhiomadusi. Selle kahekordistumisaeg on varajases faasis ligikaudu 42 tundi, mis vähenes 23 tunnini hilisemates rakukultuuride etappides, ja seda on säilitatud üle 100 in vitro faasi. Rakuliinil on epiteeli morfoloogia koos epiteeli sarnase organismi ja suure rakkude-rakkude adhesiivsusega. Siiski reageerib see piiratud määral plaatinapõhisele kemoteraapiale, kuid on väga tundlik paklitakseli suhtes (IC50: 6,3 ± 2,2 nM). Lisaks on PM-LGSOC-01 eriti tundlik MEK-inhibiitori trametiniibi suhtes (IC50: 7,2 ± 0,5 nM) nii in vitro kui ka in vivo, mis näitab KRAS-mutatsiooni mõju ravivastusele.

PM-LGSOC-01 on väärtuslik vahend LGSOC-i uurimiseks, eriti ravimresistentsuse, kasvajakudise ja tundlikkuse suhtes sihtotstarbeliste ravimeetodite, nagu MEK-inhibiitorid, kontekstis. Selle kasutamine madala seroosse munasarjakartsinoomi personaliseeritud ravimeetodite väljatöötamisel on kriitilise tähtsusega, arvestades LGSOC-i kehvast tundlikkusest tavapärase keemiaravi suhtes võrreldes kõrge seroosse munasarjakartsinoomiga (HGSOC).

<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Munasarjad
<b>Disease</b>	Madala astme seroosne munasarjakartsinoom
<b>Metastatic site</b>	Peritoneum
<b>Synonyms</b>	M28/2

## Omadused

<b>Age</b>	60 aastat
<b>Gender</b>	Naised
<b>Morphology</b>	Epiteelilaadsed

## PM-LGSOC-01 rakud | 300305

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** PM-LGSOC-01 (Cytioni katalooginumber 300305)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_xx32

## Biomolekulaarsed andmed

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

## Töötlemine

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

**Dissociation Reagent** Trypsiin/EDTA ja Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> vaba fosfaatpuhver

**Doubling time** 42 tundi

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Split ratio** Soovitav on suhe 1:20

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>

## PM-LGSOC-01 rakud | 300305

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle  $37^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## PM-LGSOC-01 rakud | 300305

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### STR-profiil

**CSF1PO:** 10,11  
**D13S317:** 12,13  
**D16S539:** 10,13  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 9,1  
**TH01:** 6,7  
**TPOX:** 8,1  
**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