

PM-LGSOC-01 ląstelės | 300305

Bendra informacija

Description

PM-LGSOC-01 yra ląstelių linija, gauta iš peritoninės metastazės, gautos iš žemo laipsnio serozinės kiaušidžių karcinomos (LGSOC). Ši ląstelių linija buvo sukurta kaip išsamaus tyrimų modelio, į kurį taip pat buvo įtrauktas iš paciento gautas ksenograftas (PDX), dalis. PM-LGSOC-01 buvo sukurta ortotopiniu būdu, išvirkščiant SCID/Beige pelėms po pilvaplėvės ertme naviko tirščius, ir taip buvo sukurtas ankstyvosios stadijos transplantuojamų peritoninių metastazių (PM)-PDX modelis. Histologinė analizė patvirtino, kad tiek PM-PDX, tiek PM-LGSOC-01 ląstelės išlaikė LGSOC būdingą mikropapiliarinį ir kribriforminį augimo pobūdį, naviko pumpurų formavimąsi ir tokių žymenų kaip PAX8 ir WT1 raišką. Genetinė analizė parodė, kad pirminis navikas, PM ir ląstelių linija turi bendrą KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) mutaciją, todėl šis modelis tinka LGSOC progresavimui ir atsakui į gydymą tirti, ypač atsižvelgiant į MAPK kelią.

PM-LGSOC-01 pasižymi pagrindinėmis ikiklinikiniams tyrimams svarbiomis savybėmis. Ankstyvuose ląstelių auginimo etapuose jo padvigubėjimo trukmė yra maždaug 42 valandos, o vėlesniuose ląstelių auginimo etapuose ji sutrumpėja iki 23 valandų, be to, jis išlaikomas daugiau kaip 100 in vitro etapų. Ląstelių linija pasižymi epitelio morfologija, panašia į epitelio organizaciją ir dideliu ląstelių sukibimu. Tačiau jos atsakas į chemoterapiją platinos pagrindu yra ribotas, tačiau ji labai jautri paklitakseliui (IC50: 6,3 ± 2,2 nM). Be to, PM-LGSOC-01 yra ypač jautrus MEK inhibitoriui trametinibui (IC50: 7,2 ± 0,5 nM) tiek in vitro, tiek in vivo, o tai rodo KRAS mutacijos poveikį terapiniam atsakui.

PM-LGSOC-01 yra vertingas įrankis LGSOC tyrimams, ypač atsparumo vaistams, navikiškumo ir jautrumo taikinių terapijai, pavyzdžiui, MEK inhibitoriams, kontekste. Jį labai svarbu naudoti kuriant individualizuotus žemo laipsnio serozinės kiaušidžių karcinomos gydymo metodus, nes LGSOC, palyginti su aukšto laipsnio serozine kiaušidžių karcinoma (HGSOC), prastai reaguoja į įprastinę chemoterapiją.

Organism	Žmogus
Tissue	Kiaušidės
Disease	Žemo laipsnio serozinė kiaušidžių karcinoma
Metastatic site	Pilvaplėvė
Synonyms	M28/2

Charakteristikos

Age	60 metų
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus

PM-LGSOC-01 ląstelės | 300305

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation PM-LGSOC-01 (Cytion katalogo numeris 300305)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_xx32

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

Dissociation Reagent Tripsinas/EDTA ir Ca²⁺/Mg²⁺ laisvasis fosfatinis buferis

Doubling time 42 valandos

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio Rekomenduojamas santykis 1:20

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm²

PM-LGSOC-01 ląstelės | 300305**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

PM-LGSOC-01 ląstelės | 300305

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

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