

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 mikropapilárne a kribiformné rastové vzory typické 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 ± 2,2 nM). Okrem toho je PM-LGSOC-01 obzvlášť citlivý na inhibítor MEK trametinib (IC₅₀: 7,2 ± 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 NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Trypsín/EDTA a Ca²⁺/Mg²⁺ 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.**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:20**Seeding density** 1 x 10⁴ buniek/cm²

Bunky PM-LGSOC-01 | 300305

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 obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

Žiadne

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 a molekulárna analýza**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.

STR profile

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