

Клітини PM-LGSOC-01 | 300305

Загальна інформація

Description

PM-LGSOC-01 - це клітинна лінія, отримана з перитонеального метастазу низькодиференційованої серозної карциноми яєчника (LGSOC). Ця клітинна лінія була створена в рамках комплексної дослідницької моделі, яка також включала ксенотрансплантат, отриманий від пацієнта (PDX). Створення PM-LGSOC-01 включало ортотопічне приживлення шляхом підшкірного введення пухлинної суспензії мишам лінії SCID/Beige, що призвело до створення моделі перитонеального метастазування (PM)-PDX на ранніх стадіях, що піддається трансплантації. Гістологічний аналіз підтвердив, що як клітини PM-PDX, так і клітини PM-LGSOC-01 зберігали мікропапілярний та крибриформний тип росту, характерний для LGSOC, з брунькуванням пухлини та експресією таких маркерів, як PAX8 та WT1. Генетичний аналіз показав, що первинна пухлина, PM і клітинна лінія мають спільну мутацію KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), що робить цю модель релевантною для вивчення прогресування LGSOC і відповіді на лікування, особливо щодо шляху MAPK.

PM-LGSOC-01 має ключові характеристики, важливі для доклінічних досліджень. Вона має час подвоєння приблизно 42 години на ранніх пасажах, який зменшується до 23 годин на пізніх стадіях культивування клітин, і зберігається протягом більше 100 пасажів *in vitro*. Клітинна лінія демонструє епітеліальну морфологію з епітеліоподібною організацією та високою адгезією між клітинами. Однак вона демонструє обмежену відповідь на хіміотерапію на основі платини, але є високочутливою до паклітакселу (IC50: 6,3 ± 2,2 нМ). Крім того, PM-LGSOC-01 особливо чутлива до інгібітору MEK траметинібу (IC50: 7,2 ± 0,5 нМ) як *in vitro*, так і *in vivo*, що відображає вплив мутації KRAS на терапевтичну відповідь.

PM-LGSOC-01 слугує цінним інструментом для дослідження LGSOC, особливо в контексті медикаментозної резистентності, пухлинної активності та чутливості до таргетної терапії, такої як інгібітори MEK. Його використання для розробки персоналізованих підходів до лікування низькодиференційованої серозної карциноми яєчників є критично важливим, враховуючи погану чутливість LGSOC до звичайної хіміотерапії порівняно з високкодиференційованою серозною карциномою яєчників (HGSOC).

Organism

Людина

Tissue

Яєчник

Disease

Карцинома яєчників низького ступеня злоякісності

Metastatic site

Очеревина

Synonyms

M28/2

Характеристики

Age

60 років

Gender

Жінка

Клітини PM-LGSOC-01 | 300305

Morphology Епітеліальноподібні**Growth properties** Адепт

Нормативні дані

Citation PM-LGSOC-01 (номер за каталогом Cytion 300305)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_xx32

Біомолекулярні дані

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

Обробка

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO₃, w: EBSS (цит. номер 820100a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA**Dissociation Reagent** Трипсин/ЕДТА та вільний фосфатний буфер Ca²⁺/Mg²⁺**Doubling time** 42 години**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини акутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Split ratio** Рекомендується співвідношення 1:20

Клітини PM-LGSOC-01 | 300305

Seeding density 1×10^4 клітин/см²

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, волога атмосфера.

Flask Coating Hi

Клітини PM-LGSOC-01 | 300305

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

**Storage
Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз**Sterility**

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Профіль STR

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