

PM-LGSOC-01 Cellule | 300305**Informazioni generali****Description**

PM-LGSOC-01 è una linea cellulare derivata da metastasi peritoneali di un carcinoma ovarico sieroso di basso grado (LGSOC). Questa linea cellulare è stata creata come parte di un modello di ricerca completo che comprendeva anche uno xenotrapianto derivato da paziente (PDX). La creazione di PM-LGSOC-01 ha comportato l'innesto ortotopico tramite iniezione di liquame tumorale sottoperitoneale in topi SCID/Beige, portando a un modello di metastasi peritoneale trapiantabile (PM)-PDX allo stadio iniziale. L'analisi istologica ha confermato che sia le cellule PM-PDX che quelle PM-LGSOC-01 hanno mantenuto i modelli di crescita micropapillare e cririforme tipici di LGSOC, con gemmazione tumorale ed espressione di marcatori come PAX8 e WT1. L'analisi genetica ha mostrato che il tumore primario, il PM e la linea cellulare condividono una mutazione KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), rendendo questo modello rilevante per lo studio della progressione di LGSOC e della risposta al trattamento, in particolare in relazione alla via MAPK.

PM-LGSOC-01 presenta caratteristiche fondamentali per la ricerca preclinica. Ha un tempo di raddoppiamento di circa 42 ore nei primi passaggi, che è sceso a 23 ore nelle fasi successive della coltura cellulare, ed è stata mantenuta per oltre 100 passaggi in vitro. La linea cellulare dimostra una morfologia epiteliale con un'organizzazione simile a quella epiteliale e un'elevata adesione cellula-cellula. Tuttavia, mostra una risposta limitata alla chemioterapia a base di platino, ma è altamente sensibile al paclitaxel (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Inoltre, PM-LGSOC-01 è particolarmente sensibile all'inibitore MEK trametinib (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), sia in vitro che in vivo, riflettendo l'impatto della mutazione KRAS sulle risposte terapeutiche.

PM-LGSOC-01 è uno strumento prezioso per studiare LGSOC, in particolare nel contesto della resistenza ai farmaci, della tumorigenicità e della sensibilità alle terapie mirate come gli inibitori di MEK. Il suo utilizzo nello sviluppo di approcci terapeutici personalizzati per il carcinoma ovarico sieroso di basso grado è fondamentale, data la scarsa reattività dell'LGSOC alla chemioterapia convenzionale rispetto al carcinoma ovarico sieroso di alto grado (HGSOC).

Organism

Umano

Tissue

Ovaio

Disease

Carcinoma ovarico sieroso di basso grado

Metastatic site

Peritoneo

Synonyms

M28/2

Caratteristiche**Age**

60 anni

Gender

Donna

Morphology

Simile all'epitelio

PM-LGSOC-01 Cellule | 300305

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation PM-LGSOC-01 (numero di catalogo Cytion 300305)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_xx32

Depositor Olivier De Wever

Dati biomolecolari

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

Manipolazione

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA

Dissociation Reagent Trypsina/EDTA e tampone fosfato libero da Ca²⁺/Mg²⁺

Doubling time 42 ore

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si raccomanda un rapporto di 1:20

PM-LGSOC-01 Cellule | 300305

Seeding density 1×10^4 cellule/cm²

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

PM-LGSOC-01 Cellule | 300305**Freezing
Procedure**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Storage
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

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