

PM-LGSOC-01 Celler | 300305

Generell informasjon

Description

PM-LGSOC-01 er en cellelinje som stammer fra peritoneale metastaser av lavgradig serøst ovarialkarsinom (LGSOC). Denne cellelinjen ble etablert som en del av en omfattende forskningsmodell som også inkluderte et pasientavledet xenograft (PDX). PM-LGSOC-01 ble fremstilt ved ortotopisk poding via subperitoneal injeksjon av tumorslam i SCID/Beige-mus, noe som førte til en PDX-modell med peritoneal metastase (PM) i et tidlig stadium av transplantasjon. Histologiske analyser bekreftet at både PM-PDX- og PM-LGSOC-01-cellene beholdt de mikropapillære og cribriforme vekstmønstrene som er typiske for LGSOC, med tumorknoppdannelse og uttrykk av markører som PAX8 og WT1. Genetisk analyse viste at primærsvulsten, PM og cellelinjen deler en KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val)-mutasjon, noe som gjør denne modellen relevant for å studere LGSOC-progresjon og behandlingsrespons, spesielt i forhold til MAPK-veien.

PM-LGSOC-01 har viktige egenskaper som er relevante for preklinisk forskning. Den har en fordoblingstid på ca. 42 timer i de tidlige passasjene, som er redusert til 23 timer i senere stadier av cellekulturen, og den har blitt opprettholdt i over 100 in vitro-passasjer. Cellelinjen har epitel-morfologi med epitel-lignende organisering og høy celle-celle-adhesjon. Den viser imidlertid begrenset respons på platinabasert kjemoterapi, men er svært følsom for paklitaksel (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). I tillegg er PM-LGSOC-01 spesielt følsom for MEK-hemmeren trametinib (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), både in vitro og in vivo, noe som gjenspeiler KRAS-mutasjonens innvirkning på behandlingsresponsen.

PM-LGSOC-01 er et verdifullt verktøy for å undersøke LGSOC, særlig i sammenheng med legemiddelresistens, tumorigenisitet og følsomhet for målrettede behandlinger som MEK-hemmere. Det er viktig å bruke PM-LGSOC-01 i utviklingen av persontilpassede behandlingsmetoder for lavgradig serøs ovarialkarsinom, ettersom LGSOC reagerer dårligere på konvensjonell kjemoterapi enn høygradig serøs ovarialkarsinom (HGSOC).

Organism

Menneskelig

Tissue

Eggstokk

Disease

Lavgradig serøst ovariekarsinom

Metastatic site

Bukhinnen

Synonyms

M28/2

Kjennetegn

Age

60 år

Gender

Kvinne

Morphology

Epitel-lignende

PM-LGSOC-01 Celler | 300305

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation PM-LGSOC-01 (Cytion-katalognummer 300305)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_xx32**Depositor** Olivier De Wever

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Trypsin/EDTA og Ca²⁺/Mg²⁺ fri fosfatbuffer**Doubling time** 42 timer**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:20 anbefales

PM-LGSOC-01 Celler | 300305

Seeding density 1×10^4 celler/cm²**Freeze medium**

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør celleduspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.**Flask Coating**For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

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

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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