

PM-LGSOC-01-celler | 300305

Generel information

Description

PM-LGSOC-01 er en cellelinje, der stammer fra peritoneal metastase af et lavgradigt serøst ovariecarcinom (LGSOC). Denne cellelinje blev etableret som en del af en omfattende forskningsmodel, der også omfattede et patientafledt xenotransplantat (PDX). Oprettelsen af PM-LGSOC-01 involverede ortotopisk podning via subperitoneal injektion af tumorslam i SCID/Beige-mus, hvilket førte til en transplantabel peritoneal metastase (PM)-PDX-model i et tidligt stadie. Histologisk analyse bekræftede, at både PM-PDX- og PM-LGSOC-01-cellerne bevarede de mikropapillære og cribriforme vækstmønstre, der er typiske for LGSOC, med tumorudspring og udtryk for markører som PAX8 og WT1. Genetisk analyse viste, at den primære tumor, PM'en og cellelinjen deler en KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val)-mutation, hvilket gør denne model relevant til undersøgelse af LGSOC-progression og behandlingsrespons, især i forhold til MAPK-vejen.

PM-LGSOC-01 udviser nøgleegenskaber, der er relevante for præklinisk forskning. Den har en fordoblingstid på ca. 42 timer i tidlige passager, som faldt til 23 timer i senere stadier af cellekulturen, og den er blevet vedligeholdt i over 100 in vitro-passager. Cellelinjen udviser epitelmorfologi med epitellignende organisation og høj celle-celle-adhæsion. Den viser dog begrænset respons på platinbaseret kemoterapi, men er meget følsom over for paclitaxel (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Derudover er PM-LGSOC-01 særligt følsom over for MEK-hæmmere trametinib (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), både in vitro og in vivo, hvilket afspejler KRAS-mutationens indvirkning på den terapeutiske respons.

PM-LGSOC-01 er et værdifuldt værktøj til at undersøge LGSOC, især i forbindelse med lægemiddelresistens, tumorigenicitet og følsomhed over for målrettede terapier som MEK-hæmmere. Det er vigtigt at bruge det til at udvikle personlige behandlingsmetoder til lavgradigt serøst ovariecarcinom i betragtning af, at LGSOC reagerer dårligt på konventionel kemoterapi sammenlignet med højgradigt serøst ovariecarcinom (HGSOC).

Organism Menneske

Tissue Æggestokkene

Disease Serøst ovariecarcinom af lav grad

Metastatic site Bughinden

Synonyms M28/2

Karakteristika

Age 60 år

Gender Kvinde

Morphology Epitel-lignende

PM-LGSOC-01-celler | 300305

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 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 medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Split ratio** Det anbefales at bruge et forhold på 1:20**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²

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

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

PM-LGSOC-01-celler | 300305

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

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