

PM-LGSOC-01 Zellen | 300305

Allgemeine Informationen

Description

PM-LGSOC-01 ist eine Zelllinie, die aus einer peritonealen Metastase eines niedriggradigen serösen Ovarialkarzinoms (LGSOC) stammt. Diese Zelllinie wurde als Teil eines umfassenden Forschungsmodells etabliert, das auch ein von einem Patienten stammendes Xenotransplantat (PDX) umfasste. Die Herstellung von PM-LGSOC-01 erfolgte durch orthotopes Engrafting mittels subperitonealer Injektion von Tumorbrei in SCID/Beige-Mäuse, was zu einem transplantierbaren peritonealen Metastasen (PM)-PDX-Modell im Frühstadium führte. Die histologische Analyse bestätigte, dass sowohl die PM-PDX- als auch die PM-LGSOC-01-Zellen die für LGSOC typischen mikropapillären und cribriformen Wachstumsmuster aufwiesen, mit Tumorknospung und Expression von Markern wie PAX8 und WT1. Genetische Analysen zeigten, dass der Primärtumor, das PM und die Zelllinie eine KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) Mutation aufweisen, was dieses Modell für die Untersuchung der LGSOC-Progression und des Therapieansprechens, insbesondere in Bezug auf den MAPK-Signalweg, relevant macht.

PM-LGSOC-01 weist wichtige Merkmale auf, die für die präklinische Forschung relevant sind. Die Zelllinie hat eine Verdopplungszeit von ca. 42 Stunden in frühen Passagen, die sich in späteren Stadien der Zellkultur auf 23 Stunden verringert, und wurde über 100 In-vitro-Passagen erhalten. Die Zelllinie weist eine epitheliale Morphologie mit epithelialer Organisation und hoher Zell-Zell-Adhäsion auf. Sie spricht jedoch nur begrenzt auf eine platinbasierte Chemotherapie an, ist aber sehr empfindlich gegenüber Paclitaxel (IC50: 6,3 ± 2,2 nM). Darüber hinaus ist PM-LGSOC-01 besonders empfindlich gegenüber dem MEK-Inhibitor Trametinib (IC50: 7,2 ± 0,5 nM), sowohl in vitro als auch in vivo, was die Auswirkungen der KRAS-Mutation auf das therapeutische Ansprechen widerspiegelt.

PM-LGSOC-01 ist ein wertvolles Instrument zur Untersuchung von LGSOC, insbesondere im Zusammenhang mit Arzneimittelresistenz, Tumorigenität und Empfindlichkeit gegenüber gezielten Therapien wie MEK-Inhibitoren. Sein Einsatz bei der Entwicklung personalisierter Behandlungsansätze für das niedriggradige seröse Ovarialkarzinom ist von entscheidender Bedeutung, da LGSOC im Vergleich zum hochgradigen serösen Ovarialkarzinom (HGSOC) schlecht auf konventionelle Chemotherapie anspricht.

Organism Menschen

Tissue Eierstock

Disease Niedriggradiges seröses Ovarialkarzinom

Metastatic site Bauchfell

Synonyms M28/2

Merkmale

Age 60 Jahre

Gender Weiblich

PM-LGSOC-01 Zellen | 300305

Morphology Epithelähnlich**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** PM-LGSOC-01 (Cytion Katalognummer 300305)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_xx32**Depositor** Olivier De Wever**Biomolekulare Daten****Mutational profile** KRAS c.35 G > T (p.(Gly12Val)) Mutation**Handhabung****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA**Dissociation Reagent** Trypsin/EDTA und Ca²⁺/Mg²⁺ freier Phosphatpuffer**Doubling time** 42 Stunden**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

PM-LGSOC-01 Zellen | 300305

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:20

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenen Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

PM-LGSOC-01 Zellen | 300305

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

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