

PM-LGSOC-01 Cellen | 300305

Algemene informatie

Description

PM-LGSOC-01 is een cellijn afkomstig van peritoneale metastase van een laaggradig sereus ovariumcarcinoom (LGSOC). Deze cellijn werd ontwikkeld als onderdeel van een uitgebreid onderzoeksmodel dat ook een van patiënten afkomstige xenograft (PDX) omvatte. De creatie van PM-LGSOC-01 bestond uit orthotope enting via subperitoneale injectie van tumorslurry in SCID/Beige muizen, wat leidde tot een vroeg stadium van transplanteerbare peritoneale metastase (PM)-PDX-model. Histologische analyse bevestigde dat zowel de PM-PDX als de PM-LGSOC-01 cellen de micropapillaire en cribriformale groeipatronen behielden die typisch zijn voor LGSOC, met tumorknopvorming en expressie van markers zoals PAX8 en WT1. Genetische analyse toonde aan dat de primaire tumor, de PM en de cellijn een KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val) mutatie delen, waardoor dit model relevant is voor het bestuderen van de progressie van LGSOC en de respons op behandeling, met name in relatie tot de MAPK pathway.

PM-LGSOC-01 vertoont belangrijke kenmerken die relevant zijn voor preklinisch onderzoek. Het heeft een verdubbelingstijd van ongeveer 42 uur in vroege passages, die afnam tot 23 uur in latere stadia van celweek, en is meer dan 100 in vitro passages volgehouden. De cellijn vertoont een epitheliale morfologie met een epitheelachtige organisatie en een hoge cel-cel adhesie. Ze vertoont echter een beperkte respons op platinum-gebaseerde chemotherapie, maar is zeer gevoelig voor paclitaxel (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). Bovendien is PM-LGSOC-01 bijzonder gevoelig voor de MEK-remmer trametinib (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), zowel in vitro als in vivo, wat de impact van de KRAS-mutatie op de therapeutische respons weerspiegelt.

PM-LGSOC-01 dient als een waardevol instrument voor het onderzoeken van LGSOC, met name in de context van resistentie tegen geneesmiddelen, tumorigeniciteit en gevoeligheid voor gerichte therapieën zoals MEK-remmers. Het gebruik ervan in de ontwikkeling van gepersonaliseerde behandelingsbenaderingen voor laaggradig sereus ovariumcarcinoom is cruciaal, gezien de slechte respons van LGSOC op conventionele chemotherapie in vergelijking met hooggradig sereus ovariumcarcinoom (HGSOC).

Organism Mens

Tissue Eierstok

Disease Laaggradig sereus ovariumcarcinoom

Metastatic site Peritoneum

Synonyms M28/2

Kenmerken

Age 60 jaar

Gender Vrouw

Morphology Epitheelachtig

PM-LGSOC-01 Cellen | 300305

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation PM-LGSOC-01 (Cytion catalogusnummer 300305)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_xx32

Depositor Olivier De Wever

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

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

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

Dissociation Reagent Trypsine/EDTA en Ca²⁺/Mg²⁺ vrije fosfaatbuffer

Doubling time 42 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:20 wordt aanbevolen

PM-LGSOC-01 Cellen | 300305

Seeding density 1×10^4 cellen/cm²

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating Geen

PM-LGSOC-01 Cellen | 300305

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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