

**Células PM-LGSOC-01 | 300305****Informações gerais****Description**

A PM-LGSOC-01 é uma linha celular derivada de metástases peritoneais de um carcinoma seroso do ovário de baixo grau (LGSOC). Esta linha celular foi estabelecida como parte de um modelo de investigação abrangente que também incluía um xenoinxerto derivado de um doente (PDX). A criação da PM-LGSOC-01 envolveu o enxerto ortotópico através da injeção subperitoneal de lama tumoral em ratinhos SCID/Beige, conduzindo a um modelo de metástase peritoneal transplantável (PM)-PDX em fase inicial. A análise histológica confirmou que tanto as células PM-PDX como as PM-LGSOC-01 mantiveram os padrões de crescimento micropapilar e cribriforme típicos do LGSOC, com brotamento tumoral e expressão de marcadores como PAX8 e WT1. A análise genética mostrou que o tumor primário, o PM e a linha celular partilham uma mutação KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), o que torna este modelo relevante para o estudo da progressão do LGSOC e da resposta ao tratamento, particularmente em relação à via MAPK.

O PM-LGSOC-01 apresenta características-chave relevantes para a investigação pré-clínica. Tem um tempo de duplicação de aproximadamente 42 horas nas primeiras passagens, que diminuiu para 23 horas nas fases posteriores da cultura de células, e foi mantida durante mais de 100 passagens in vitro. A linha celular demonstra uma morfologia epitelial com uma organização do tipo epitelial e uma elevada adesão célula-célula. No entanto, apresenta uma resposta limitada à quimioterapia à base de platina, mas é altamente sensível ao paclitaxel (IC50:  $6,3 \pm 2,2$  nM). Além disso, o PM-LGSOC-01 é particularmente sensível ao inibidor de MEK trametinib (IC50:  $7,2 \pm 0,5$  nM), tanto in vitro como in vivo, reflectindo o impacto da mutação KRAS nas respostas terapêuticas.

O PM-LGSOC-01 serve como uma ferramenta valiosa para investigar o LGSOC, particularmente no contexto da resistência aos medicamentos, tumorigenicidade e sensibilidade a terapias direcionadas como os inibidores MEK. A sua utilização no desenvolvimento de abordagens terapêuticas personalizadas para o carcinoma seroso do ovário de baixo grau é fundamental, dada a fraca capacidade de resposta do LGSOC à quimioterapia convencional em comparação com o carcinoma seroso do ovário de alto grau (HGSOC).

**Organism** Humano**Tissue** Ovário**Disease** Carcinoma seroso do ovário de baixo grau**Metastatic site** Peritoneu**Synonyms** M28/2**Caraterísticas****Age** 60 anos**Gender** Feminino

**Células PM-LGSOC-01 | 300305****Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** PM-LGSOC-01 (número de catálogo Cytion 300305)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_xx32**Depositor** Olivier De Wever**Dados biomoleculares****Mutational profile** Mutação KRAS c.35 G > T (p.(Gly12Val))**Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Tampão de fosfato livre de tripsina/EDTA e Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>**Doubling time** 42 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** Recomenda-se uma proporção de 1:20

**Células PM-LGSOC-01 | 300305****Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera humidificada.**Flask Coating** Nenhum

## Células PM-LGSOC-01 | 300305

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

### Perfil STR

**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