

Celule PM-LGSOC-01 | 300305

Informații generale

Description

PM-LGSOC-01 este o linie celulară derivată din metastaza peritoneală a unui carcinom ovarian seros de grad scăzut (LGSOC). Această linie celulară a fost stabilită ca parte a unui model de cercetare cuprinzător care a inclus, de asemenea, o xenogrefă derivată din pacient (PDX). Crearea PM-LGSOC-01 a implicat grefarea ortotopică prin injectarea subperitoneală a suspensiei tumorale la șoarecii SCID/Beige, ceea ce a condus la un model de metastază peritoneală transplantabilă (PM)-PDX în stadiu incipient. Analiza histologică a confirmat că atât celulele PM-PDX, cât și PM-LGSOC-01 au păstrat modelele de creștere micropapilare și cribriforme tipice LGSOC, cu înmugurirea tumorii și exprimarea unor markeri precum PAX8 și WT1. Analiza genetică a arătat că tumora primară, PM și linia celulară au în comun o mutație KRAS c.35 G > T (p.Gly12Val), ceea ce face ca acest model să fie relevant pentru studiul progresiei LGSOC și al răspunsului la tratament, în special în ceea ce privește calea MAPK.

PM-LGSOC-01 prezintă caracteristici cheie relevante pentru cercetarea preclinică. Aceasta are un timp de dublare de aproximativ 42 de ore în pasajele timpurii, care a scăzut la 23 de ore în etapele ulterioare ale culturii celulare, și a fost menținută pentru peste 100 de pasaje in vitro. Linia celulară demonstrează morfologie epitelială cu organizare de tip epitelial și aderență celulară ridicată. Cu toate acestea, prezintă un răspuns limitat la chimioterapia pe bază de platină, dar este foarte sensibilă la paclitaxel (IC50: $6,3 \pm 2,2$ nM). În plus, PM-LGSOC-01 este deosebit de sensibil la inhibitorul MEK trametinib (IC50: $7,2 \pm 0,5$ nM), atât in vitro, cât și in vivo, reflectând impactul mutației KRAS asupra răspunsurilor terapeutice.

PM-LGSOC-01 servește ca un instrument valoros pentru investigarea LGSOC, în special în contextul rezistenței la medicamente, al tumorigenității și al sensibilității la terapiile țintite precum inhibitorii MEK. Utilizarea sa în dezvoltarea abordărilor terapeutice personalizate pentru carcinomul ovarian seros de grad scăzut este esențială, având în vedere răspunsul scăzut al LGSOC la chimioterapia convențională în comparație cu carcinomul ovarian seros de grad înalt (HGSOC).

Organism

Om

Tissue

Ovar

Disease

Carcinom ovarian seros de grad scăzut

Metastatic site

Peritoneu

Synonyms

M28/2

Caracteristici

Age

60 de ani

Gender

Femei

Morphology

De tip epitelial

Celule PM-LGSOC-01 | 300305

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation PM-LGSOC-01 (număr de catalog Cytion 300305)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_xx32

Date biomoleculare

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

Manipulare

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

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA

Dissociation Reagent Tripsină/EDTA și tampon fosfat fără Ca²⁺/Mg²⁺

Doubling time 42 de ore

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Split ratio Se recomandă un raport de 1:20

Seeding density 1 x 10⁴ celule/cm²

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

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule PM-LGSOC-01 | 300305**Shipping
Conditions**

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Storage
Conditions**

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară**Sterility**

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul 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