Product sheet

Ρένκα-Λουκ | 305696

Γενικές πληροφορίες

Description	Το Renca-Luc είναι ένα βιοφωταυγές παράγωγο της ποντικής κυτταρικής σειράς Renca του νεφρικού καρκινώματος, το οποίο έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει σταθερά ένα γονίδιο-δείκτη λουσιφεράσης πυγολαμπίδας. Η μητρική κυτταρική σειρά Renca προήλθε αυθόρμητα από ένα νεφρικό καρκίνωμα σε ποντίκι BALB/c και αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα συγγενικά μοντέλα για το νεφρικό καρκίνωμα (RCC) στην έρευνα της ανοσο-ογκολογίας. Οι όγκοι Renca αναπτύσσονται επιθετικά και παρουσιάζουν χαμηλή ανοσογονικότητα σε ξενιστές BALB/c, γεγονός που καθιστά αυτό το μοντέλο πολύτιμο για την αξιολόγηση προσεγγίσεων ανοσοθεραπείας, συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων σημείων ελέγχου, των θεραπειών με κυτοκίνες και των εμβολίων κατά του καρκίνου, σε ένα ανοσοϊκανό περιβάλλον που αναπαράγει το ανοσοκατασταλτικό μικροπεριβάλλον που είναι χαρακτηριστικό του ανθρώπινου RCC. Η σταθερή ενσωμάτωση της λουσιφεράσης στο Renca-Luc επιτρέπει την ευαίσθητη, μη επεμβατική απεικόνιση βιοφωταύγειας (BLI) του όγκου σε ορθοτοπικά μοντέλα υπονεφρικής κάψουλας και υποδόρια μοντέλα ξενομοσχεύματος σε συγγενικά ποντίκια BALB/c. Μετά τη χορήγηση λουσιφερίνης, το εκπεμπόμενο σήμα συσχετίζεται με τον αριθμό των βιώσιμων καρκινικών κυττάρων, υποστηρίζοντας τη διαχρονική παρακολούθηση της εμφύτευσης του όγκου, της κινητικής ανάπτυξης και της θεραπευτικής απόκρισης χωρίς επαναλαμβανόμενες επεμβατικές διαδικασίες. Το Renca-Luc χρησιμοποιείται ευρέως για την in vivo αξιολόγηση παραγόντων κατά του RCC, στρατηγικών συνδυαστικής ανοσοθεραπείας και αναστολέων της αγγειογένεσης στην προκλινική έρευνα για τον καρκίνο του νεφρού. Το Renca-Luc διατηρεί τις καθιερωμένες βιολογικές και ανοσολογικές ιδιότητες της γονικής σειράς Renca, συμπεριλαμβανομένης της συγγενικής συμβατότητας με BALB/c και του χαρακτηριστικού φαινοτύπου του με χαμηλή ανοσογονικότητα. Η τροποποίηση με λουσιφεράση ενισχύει σημαντικά την πειραματική ευαισθησία και επιτρέπει τη φαρμακοδυναμική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας σε πραγματικό χρόνο. Οι ερευνητές θα πρέπει να επαληθεύουν τη δραστηριότητα της λουσιφεράσης, την κινητική ανάπτυξης και τα ανοσολογικά χαρακτηριστικά υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες τους πριν από τη χρήση σε μεγάλη κλίμακα in vivo.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Νεφρός
Disease	Καρκίνωμα νεφρού ποντικού
Synonyms	Κυτταρική σειρά RenCa με ρεπόρτερ λουσιφεράσης

Χαρακτηριστικά

Age	6 εβδομάδες
Gender	Άντρας
Ethnicity	BALB/c

Ρένκα-Λουκ | 305696

Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Renca-Luc (αριθμός καταλόγου Cytion 305696)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_E3IJ
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας (Luc2, με βελτιστοποιημένα κωδόνια), η οποία εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	Luc2 (πυγολαμπίδα, με βελτιστοποιημένα κωδόνια)
Tumorigenic	Ναι, σε συνγονιδιακά ποντίκια

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24-48 ώρες

Ρένκα-Λουκ | 305696

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 3
Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.

7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Ρένκα-Λουκ | 305696

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση