

RM-1-Luc-rakud | 305703

Üldine teave

Description

RM-1-Luc on hiire RM-1 eesnäärmevähirakkude liini bioluminestsentne derivaat, mis on geneetiliselt muundatud nii, et see ekspresseerib stabiilselt särava liblika lusiferase reportergeeni. Algrakuliin RM-1 loodi hiire eesnäärme kartsinoomist, mis pärines 17. lootepäeval C57BL/6 loote koest, ning see on kiiresti kasvav, androgeenist sõltumatu eesnäärmevähi mudel C57BL/6 süngeensel taustal. RM-1-rakud omavad epiteelilist morfoloogiat, ekspresseerivad tüüpilisi eesnäärme kartsinoomi markereid ja moodustavad agressiivseid kasvajaid immuunkompetentsetes C57BL/6 peremeesorganismides, mistõttu sobib see mudel kasvaja ja immuunsüsteemi vastastikmõju uurimiseks ning eesnäärmevähi vastu suunatud immunoteraapiastrateegiate hindamiseks.

Stabiilne lusiferaasi integratsioon RM-1-Luc-is võimaldab pärast lusiferini manustamist elusatel C57BL/6 hiirtel teostada tundlikku, mitteinvasiivset bioluminestsentskuvamist (BLI) primaarse kasvaja kasvu ja metastaatilise leviku jälgimiseks. Väljastatav signaal korreleerub eluvõimeliste kasvajakude arvuga, võimaldades kasvaja juurdumise, kasvukineetika ja ravivastuse pikaajalist hindamist ilma korduvate invasiivsete protseduurideta. RM-1-Luc on eriti väärtuslik kontrollpunkti inhibiitorite, androgeeni-deprivatsiooni strateegiate ja kombinatsioonilise immunoteraapia lähenemisviiside prekliiniliseks hindamiseks immuunkompetentsetes eesnäärmevähi mudelis.

RM-1-Luc säilitab emaliini RM-1 peamised bioloogilised omadused, sealhulgas androgeenist sõltumatu kasvu, C57BL/6-liini süngeense ühilduvuse ja väljakujunenud kasutuse eesnäärmevähi uuringutes. Lucifereesi reporter suurendab eksperimendi tundlikkust ja võimaldab reaajas farmakodünaamilist hindamist. Teadlased peaksid enne laialatuslikku in vivo kasutamist valideerima lusiferase aktiivsuse, kasvu kineetika ja immunoloogilise fenotüübi oma konkreetsetes katsetingimustes.

Organism

Hiir

Tissue

Eesnäärme

Disease

Eesnäärme kartsinoom

Synonyms

RM1

Omadused

Breed/Subspecies

C57BL/6

Age

17 loote päeva

Gender

Mees

Morphology

Epiteel

RM-1-Luc-rakud | 305703

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

RM-1-Luc (Cytioni katalooginumber 305703)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_E3IK

GMO Status

GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbselucifereesi reporterkaasetti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/ml). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression

Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)

Töötlemine

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent

Accutase 5 minutit, toatemperatuuril

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio

1–3

RM-1-Luc-rakud | 305703

Seeding density $1-4 \times 10^4$ rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

RM-1-Luc-rakud | 305703

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs