

RM-1-Luc-solut | 305703

Yleisiä tietoja

Description

RM-1-Luc on hiiren RM-1-eturauhassyöpäsolulinjan bioluminesoiva johdannainen, joka on muokattu ilmentämään vakaasti tulikärpäsän lusiferaasi-raportointigeeniä. Alkuperäinen RM-1-solulinja perustettiin hiiren eturauhasen karsinoomasta, joka oli peräisin 17. sikiöpäivän ikäisestä C57BL/6-sikiökudoksesta, ja se on nopeasti kasvava, androgeeniriippumaton eturauhassyöpämalli C57BL/6-syngeneisessä taustassa. RM-1-solut ovat epiteelimorfologisia, ilmentävät tyypillisiä eturauhassyövän merkkiaineita ja muodostavat aggressiivisia kasvaimia immuunivasteisissa C57BL/6-isäntäeläimissä, minkä ansiosta tämä malli soveltuu kasvaimen ja immuunijärjestelmän välisten vuorovaikutusten tutkimiseen sekä eturauhassyöpää vastaan suunnattujen immunoterapiastrategioiden arviointiin.

RM-1-Luc-soluihin integroitu vakaa lusiferaasi mahdollistaa herkän, ei-invasiivisen bioluminesenssikuvantamisen (BLI) primaarisen kasvaimen kasvun ja etäpesäkkeiden leviämisen seurannassa elävissä C57BL/6-hiirissä lusiferinin antamisen jälkeen. Lähetetty signaali korreloi elävien kasvainsolujen lukumäärän kanssa, mikä mahdollistaa kasvaimen kiinnittymisen, kasvukineettisten ominaisuuksien ja hoitovasteen pitkittäisarvioinnin ilman toistuvia invasiivisia toimenpiteitä. RM-1-Luc on erityisen arvokas checkpoint-estäjien, androgeenideprivaatiostrategioiden ja yhdistelmäimmunoterapiamallien prekliinisessä arvioinnissa immuunitoiminnaltaan normaalissa eturauhassyöpämallissa.

RM-1-Luc säilyttää emolinjan RM-1 keskeiset biologiset ominaisuudet, mukaan lukien sen androgeeniriippumattoman kasvun, syngeneisen yhteensopivuuden C57BL/6-hiirien kanssa sekä vakiintuneen käytön eturauhassyövän tutkimuksessa. Lusiferaasi-raportteri parantaa kokeiden herkkyyttä ja mahdollistaa farmakodynaamisen arvioinnin reaaliajassa. Tutkijoiden tulisi validoida lusiferaasiaktiivisuus, kasvukineettiset ominaisuudet ja immunologinen fenotyyppi omissa kokeellisissa olosuhteissaan ennen laajamittaista in vivo -käyttöä.

Organism

Hiiri

Tissue

Eturauhanen

Disease

Eturauhasen karsinooma

Synonyms

RM1

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

C57BL/6

Age

17 sikiöpäivää

Gender

Mies

Morphology

Epiteeli

RM-1-Luc-solut | 305703

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

RM-1-Luc (Cytionin tuotenumero 305703)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_E3IK

GMO Status

GMO-S1: Tämä solulinja sisältää vakaasti integroidun tulikärpäsän lusiferaasi-raportointikasetin (Luc2, kodonien suhteen optimoitu), joka on tuotu soluihin replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression

Luc2 (tulikärpäsän, kodonoptimoitu)

Käsittely

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinnumero 820300a)

Supplements

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent

Accutase 5 min, huoneenlämpötila

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Split ratio

1–3

RM-1-Luc-solut | 305703

Seeding density $1-4 \times 10^4 \text{ solua/cm}^2$

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

RM-1-Luc-solut | 305703

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi