

Renca-Luc | 305696

Bendra informacija

Description

„Renca-Luc“ yra bioluminescencinis pelių inkstų karcinomos ląstelių linijos „Renca“ darinys, genetiškai modifikuotas taip, kad stabiliai ekspresuotų jonvabalių liuciferazės reporterinį geną. Pirminė „Renca“ ląstelių linija buvo spontaniškai gauta iš BALB/c pelės inkstų ląstelių karcinomos ir yra vienas iš plačiausiai naudojamų singeninių inkstų ląstelių karcinomos (RCC) modelių imunoonkologijos tyrimuose. „Renca“ navikai auga agresyviai ir yra menkai imunogeniniai BALB/c šeimininkų organizmuose, todėl šis modelis yra vertingas vertinant imunoterapijos metodus, įskaitant kontrolinių taškų inhibitorius, citokinių terapijas ir vėžio vakcinas, imunokompetentingoje aplinkoje, atkartojančioje žmogaus RCC būdingą imunosupresinę mikroaplinką.

Stabili liuciferazės integracija „Renca-Luc“ modelyje leidžia atlikti jautrų, neinvazinį naviko apkrovos bioluminescencinį vaizdinimą (BLI) ortotopiniuose po inkstų kapsulės ir poodiniuose ksenotransplantatų modeliuose singeniniuose BALB/c peliuose. Po liuciferino įvedimo skleidžiamas signalas koreliuoja su gyvybingų naviko ląstelių skaičiumi, o tai leidžia ilgalaikiai stebėti naviko įsitvirtinimą, augimo kinetiką ir atsaką į gydymą be pakartotinių invazinių procedūrų. „Renca-Luc“ plačiai naudojamas priešklinikinuose inkstų vėžio tyrimuose in vivo vertinant prieš RCC veikiančius preparatus, kombinuotas imunoterapijos strategijas ir angiogenezės inhibitorius.

„Renca-Luc“ išlaiko įprastas biologines ir imunologines tėvinės „Renca“ linijos savybes, įskaitant suderinamumą su BALB/c singeninėmis pelėmis ir jai būdingą silpnai imunogeninį fenotipą. Liuciferazės modifikacija žymiai padidina eksperimentinį jautrumą ir leidžia realiuoju laiku farmakodinamiškai įvertinti gydymo veiksmingumą. Prieš pradėdant plačiai taikyti in vivo, tyrėjai turėtų patikrinti liuciferazės aktyvumą, augimo kinetiką ir imunologines savybes savo konkrečiomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Organism

Pelė

Tissue

Inkstai

Disease

Pelės inksto karcinoma

Synonyms

Luciferazės reporterinė „RenCa“ ląstelių linija

Charakteristikos

Age

6 savaitės

Gender

Vyras

Ethnicity

BALB/c

Morphology

Į epitelį panašus

Growth properties

Prigludęs

Renca-Luc | 305696

Reguliavimo duomenys

Citation	Renca-Luc (Cytion katalogo numeris 305696)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_E3IJ
GMO Status	GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	Luc2 (vabalas, kodonų optimizuotas)
Tumorigenic	Taip, sinogeninėms pelėms

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,1 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 valandos
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–3

Renca-Luc | 305696

Seeding density 1–3 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė