

RM-1-Luc ląstelės | 305703

Bendra informacija

Description

RM-1-Luc yra pelių prostatos karcinomos ląstelių linijos RM-1 bioluminescencinis darinys, genetiškai modifikuotas taip, kad stabiliai ekspresuotų jonvabalių liuciferazės reporterinį geną. Pirminė RM-1 ląstelių linija buvo sukurta iš pelių prostatos karcinomos, gautos iš 17-os nėštumo dienos C57BL/6 vaisiaus audinio, ir yra greitai augantis, nuo androgenų nepriklausomas prostatos vėžio modelis C57BL/6 singeniniame fone. RM-1 ląstelės pasižymi epiteline morfologija, ekspresuoja tipinius prostatos karcinomos žymeklius ir sudaro agresyvius navikus imunokompetentingose C57BL/6 šeimininkėse, todėl šis modelis tinka naviko ir imuninės sistemos sąveikos tyrimams bei imunoterapijos strategijų prieš prostatos vėžį vertinimui.

Stabili liuciferazės integracija į RM-1-Luc ląsteles leidžia atlikti jautrų, neinvazinį bioluminescencinį vaizdinimą (BLI), stebint pirminio naviko augimą ir metastazių plitimą gyvuose C57BL/6 peliuose po liuciferino įvedimo. Išspinduliuotas signalas koreliuoja su gyvybingų naviko ląstelių skaičiumi, o tai leidžia atlikti naviko įsitvirtinimo, augimo kinetikos ir terapinio atsako ilgalaikį vertinimą be pakartotinių invazinių procedūrų. RM-1-Luc yra ypač vertingas atliekant ikiklinikinius kontrolinių taškų inhibitorių, androgenų deprivacijos strategijų ir kombinuotų imunoterapijos metodų vertinimus imunokompetentiniame prostatos vėžio modelyje.

RM-1-Luc išlaiko pagrindines biologines tėvinės RM-1 linijos savybes, įskaitant androgenų nepriklausomą augimą, suderinamumą su C57BL/6 singeninėmis pelėmis ir įsitvirtinimą naudojimą prostatos vėžio tyrimuose. Liuciferazės reporteris padidina eksperimentinį jautrumą ir leidžia atlikti farmakodinaminį vertinimą realiuoju laiku. Prieš pradėdami plačiu mastu naudoti šią liniją in vivo, mokslininkai turėtų patikrinti liuciferazės aktyvumą, augimo kinetiką ir imunologinį fenotipą savo konkrečiomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Organism

Pelė

Tissue

Prostatos

Disease

Prostatos karcinoma

Synonyms

RM1

Charakteristikos

Breed/Subspecies

C57BL/6

Age

17 vaisiaus dienų

Gender

Vyras

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

RM-1-Luc ląstelės | 305703

Reguliavimo duomenys

Citation	RM-1-Luc (Cytion katalogo numeris 305703)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_E3IK
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)
---------------------------	-------------------------------------

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	„Accutase“ – 5 min., kambario temperatūroje
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 perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–3
Seeding density	$1-4 \times 10^4$ ląstelių/cm ²

RM-1-Luc ląstelės | 305703

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 švriu 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 % etanoliu.
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 perkelkite 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 perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė