

MB49-Luc šūnas | 305681

Vispārīga informācija

Description

MB49-Luc ir peles MB49 urīnpūšļa pārejas šūnu karcinomas šūnu līnijas bioluminiscējošs atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskurku luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā MB49 šūnu līnija tika indukta ar 7,12-dimetilbenz[a]antracēnu (DMBA) C57BL/6 pelē, un to plaši izmanto kā urotheliālās karcinomas singēnisko modeli imūnkompetentos C57BL/6 saimniekos. MB49 šūnas uzrāda epitēlija morfoloģiju un ekspresē MHC I klases antigēnus, tādējādi padarot tās imūnoloģiski atpazīstamas saimnieka imūnsistēmai un tādējādi veidojot vērtīgu modeli audzēja un imūnsistēmas mijiedarbības, imūnterapijas pieeju un imūnsistēmas izvairīšanās mehānismu pētīšanai urīnpūšļa vēža gadījumā.

Stabila luciferāzes integrācija MB49-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, neinvazīvu bioluminiscences attēlveidošanu (BLI), lai novērtētu audzēja apjomu ortotopiskos intravezikālos un subkutānos modeļos singēniskajās C57BL/6 pelēs. Izstarotais signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, kas ļauj veikt audzēja implantācijas, urīnpūšļa audzēja progresēšanas un terapeitiskās atbildes garenvirziena novērtējumu bez atkārtotām invazīvām procedūrām. MB49-Luc ir īpaši vērtīgs, lai novērtētu intravezikālas imūnterapijas shēmas, sistēmiskos kontrolpunktu inhibitorus un jaunus ārstēšanas paņēmienus muskuļus invazīvam un muskuļus neinvazīvam urīnpūšļa vēzim imūnkompetentos pirmsklīniskos modeļos.

MB49-Luc saglabā vecāku MB49 līnijas galvenās bioloģiskās un imunoloģiskās īpašības, tostarp tās C57BL/6 singēnisko saderību un raksturīgo kariotipisko iezīmi — Y hromosomas zudumu. Luciferāzes reportera gēns uzlabo eksperimenta jutību un ļauj reāllaikā izsekot audzēja attīstībai. Pirms plaša mēroga in vivo izmantošanas pētniekiem ir jāapstiprina luciferāzes aktivitāte, augšanas kinētika un imunoloģiskais fenotips savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Pele

Tissue

Urīnpūslis

Disease

Peles urīnpūšļa pārejas šūnu karcinoma

Synonyms

MB49-luciferāze, MB49 LucSH+

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Inbreda peles šķirne (C57BL/6)

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

MB49-Luc šūnas | 305681

Normatīvie dati

Citation	MB49-Luc (Cytion kataloga numurs 305681)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_E8D4
GMO Status	GMO-S1: Šī MB49 urīnpūšļa karcinomas peles līnija satur a-Luc reporterķasešu audzēja progresijas attēlveidošanai. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	Luc
Karyotype	Ir zaudējis Y hromosomu

Darbs ar

Culture Medium	DMEM
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 stundas
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 3

MB49-Luc šūnas | 305681**Seeding density** 1 līdz 3 x 10⁴ šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.**Shipping Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

MB49-Luc šūnas | 305681

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA