

Renca-Luc | 305696

Vispārīga informācija

Description

„Renca-Luc“ ir peles Renca nieru karcinomas šūnu līnijas bioluminiscento atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskurku luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā Renca šūnu līnija tika spontāni iegūta no nieru šūnu karcinomas BALB/c pelē, un tā ir viens no visplašāk izmantotajiem singēnajiem modeļiem nieru šūnu karcinomas (RCC) pētījumos imūnonkoloģijas jomā. Renca audzēji aug agresīvi un ir vāji imūngēni BALB/c saimniekorganismos, tādējādi padarot šo modeli vērtīgu imūnterapijas pieeju novērtēšanai, tostarp kontrolpunktu inhibitoru, citokīnu terapiju un vēža vakcīnu izmantošanai imūnkompetentā vidē, kas atspoguļo cilvēka RCC raksturīgo imūnsupresīvo mikrovidi.

Stabila luciferāzes integrācija Renca-Luc ļauj veikt jutīgu, neinvazīvu bioluminescences attēlveidošanu (BLI), lai novērtētu audzēja apjomu ortotopiskos subrenālo kapsulas un subkutānos ksenotransplantātu modeļos singēniskās BALB/c pelēs. Pēc luciferīna ievadīšanas izstarotais signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, kas ļauj ilgtermiņā uzraudzīt audzēja implantāciju, augšanas kinētiku un terapeitisko atbildi bez atkārtotām invazīvām procedūrām. Renca-Luc tiek plaši izmantots in vivo novērtēšanai pret RCC vērstajiem līdzekļiem, kombinētajām imūnterapijas stratēģijām un angiogēnēzes inhibitoriem pirmsklīniskajos nieru vēža pētījumos.

Renca-Luc saglabā vecāku Renca līnijas iedibinātās bioloģiskās un imunoloģiskās īpašības, tostarp singēnisko saderību ar BALB/c pelēm un tās raksturīgo vāji imunogēno fenotipu. Luciferāzes modifikācija ievērojami uzlabo eksperimentālo jutību un ļauj reāllaikā veikt farmakodinamisko novērtējumu par ārstēšanas efektivitāti. Pirms plaša mēroga in vivo lietošanas pētījumiem ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, augšanas kinētika un imunoloģiskās īpašības savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Peles

Tissue

Nieres

Disease

Peles nieru karcinoma

Synonyms

Luciferāzes reporteru RenCa šūnu līnija

Raksturojums

Age

6 nedēļas

Gender

Vīrieši

Ethnicity

BALB/c

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Renca-Luc | 305696

Normatīvie dati

Citation	Renca-Luc (Cytion kataloga numurs 305696)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_E3IJ
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterķēžu (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Antigen expression	Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)
Tumorigenic	Jā, singēniskām pelēm

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
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

Renca-Luc | 305696

Seeding density 1 līdz 3×10^4 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. Pārļiecinieties, 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 pārnēsiet 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 šķidruma 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.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze