

RM-1-Luc šūnas | 305703

Vispārīga informācija

Description

RM-1-Luc ir peles prostatas karcinomas šūnu līnijas RM-1 bioluminiscentis atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskrēsliņa luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā RM-1 šūnu līnija tika izveidota no peles prostatas dziedzeru karcinomas, kas iegūta no C57BL/6 augļa audiem 17. augļa attīstības dienā, un tā ir strauji augošs, androgēnu neatkarīgs prostatas vēža modelis C57BL/6 singlā fonā. RM-1 šūnas uzrāda epitēlija morfoloģiju, ekspresē tipiskus prostatas karcinomas marķierus un veido agresīvus audzējus imūnkompetentos C57BL/6 saimniekos, tādējādi padarot šo modeli piemērotu audzēja un imūnsistēmas mijiedarbības pētīšanai un imūnterapijas stratēģiju novērtēšanai pret prostatas vēzi.

Stabila luciferāzes integrācija RM-1-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, neinvazīvu bioluminiscences attēlveidošanu (BLI), novērojot primārā audzēja augšanu un metastāžu izplatību dzīvos C57BL/6 pelēs pēc luciferīna ievadīšanas. Izstarotais signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, kas ļauj veikt audzēja implantācijas, augšanas kinētikas un terapeitiskās atbildes garenvirziena novērtējumu bez atkārtotām invazīvām procedūrām. RM-1-Luc ir īpaši vērtīgs, lai veiktu pirmsklīnisko novērtējumu attiecībā uz kontrolpunktu inhibitoriem, androgēnu deprivācijas stratēģijām un kombinētajām imūnterapijas pieejām imūnkompetentā prostatas vēža modelī.

RM-1-Luc saglabā vecāku RM-1 līnijas galvenās bioloģiskās īpašības, tostarp androgēnu neatkarīgo augšanu, C57BL/6 singlisko saderību un iedibināto lietošanu prostatas vēža pētījumos. Luciferāzes reportera gēns uzlabo eksperimentālo jutību un ļauj veikt farmakodinamisko novērtējumu reālajā laikā. Pētniekiem pirms plaša mēroga in vivo izmantošanas ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, augšanas kinētika un imunoloģiskais fenotips savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Pele

Tissue

Prostatas

Disease

Prostatas dziedzeru karcinoma

Synonyms

RM1

Raksturojums

Breed/Subspecies

C57BL/6

Age

17 augļa dienas

Gender

Vīrieši

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

RM-1-Luc šūnas | 305703

Normatīvie dati

Citation	RM-1-Luc (Cytion kataloga numurs 305703)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_E3IK
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterkāsešu (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)
--------------------	--------------------------------------

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase 5 min, istabas temperatūrā
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 pārklājiēt 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
Seeding density	1 līdz 4×10^4 šūnas/cm ²

RM-1-Luc šūnas | 305703

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. Pārliecinieties, 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% CO_2 , 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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze