

Komórki MB49-Luc | 305681**Informacje ogólne****Description**

MB49-Luc to bioluminescencyjna odmiana mysiej linii komórkowej MB49 pochodzącej z raka komórek przejściowych pęcherza moczowego, zmodyfikowana genetycznie w celu stabilnej ekspresji genu reporterowego lucyferazy świetlika. Pierwotna linia komórkowa MB49 została pierwotnie wywołana przez 7,12-dimetylo-benz[a]antracen (DMBA) u myszy C57BL/6 i jest szeroko stosowana jako model syngeniczny raka urotelialnego u immunokompetentnych gospodarzy C57BL/6. Komórki MB49 wykazują morfologię nabłonkową i wyrażają antygeny MHC klasy I, co sprawia, że są rozpoznawalne immunologicznie przez układ odpornościowy gospodarza, a tym samym stanowią cenny model do badania interakcji między nowotworem a układem odpornościowym, metod immunoterapii oraz mechanizmów unikania odpowiedzi immunologicznej w raku pęcherza moczowego.

Stabilna integracja lucyferazy w komórkach MB49-Luc umożliwia czułe, nieinwazyjne obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) obciążenia nowotworowego w ortotopowych modelach dopęcherzowych i podskórnych u myszy syngenicznych C57BL/6. Emitowany sygnał koreluje z liczbą żywych komórek nowotworowych, co umożliwia długoterminową ocenę wszczepienia nowotworu, progresji nowotworu pęcherza moczowego oraz odpowiedzi na leczenie bez konieczności powtarzania inwazyjnych procedur. MB49-Luc jest szczególnie cenny w ocenie schematów immunoterapii dopęcherzowej, ogólnoustrojowych inhibitorów punktów kontrolnych oraz nowych metod terapeutycznych w przypadku raka pęcherza moczowego z naciekaniami mięśniówki i bez naciekania mięśniówki w modelach przedklinicznych z prawidłową odpornością.

MB49-Luc zachowuje podstawowe cechy biologiczne i immunologiczne macierzystej linii MB49, w tym zgodność syngeniczną z myszami C57BL/6 oraz charakterystyczną cechą kariotypową polegającą na utracie chromosomu Y. Reporter lucyferazy zwiększa czułość eksperymentalną i umożliwia śledzenie guza w czasie rzeczywistym. Przed zastosowaniem na dużą skalę in vivo naukowcy powinni potwierdzić aktywność lucyferazy, kinetykę wzrostu oraz fenotyp immunologiczny w swoich konkretnych warunkach eksperymentalnych.

Organism

Mysz

Tissue

Pęcherz moczowy

Disease

Rak przejściowokomórkowy pęcherza moczowego u myszy

Synonyms

MB49-lucyferaza, MB49 LucSH+

Charakterystyka**Age**

Dorosły

Gender

Męczyzna

Ethnicity

Szczep myszy wsobnych (C57BL/6)

Morphology

Nabłonek

Komórki MB49-Luc | 305681**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** MB49-Luc (numer katalogowy Cytion 305681)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_E8D4**GMO Status** GMO-S1: Ta mysia linia MB49 z rakiem pęcherza moczowego zawiera kasetę reporterową a-Luc służącą do obrazowania rozwoju nowotworu. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie w Niemczech i może różnić się w innych krajach.**Dane biomolekularne****Protein expression** Luc**Karyotype** Stracił chromosom Y**Obsługa****Culture Medium** DMEM**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24-48 godzin**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Komórki MB49-Luc | 305681**Split ratio** od 1 do 3**Seeding density** 1 do 3×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.**Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MB49-Luc | 305681

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA