

Komórki RM-1-Luc | 305703

Informacje ogólne

Description

RM-1-Luc to bioluminescencyjna odmiana mysiej linii komórkowej RM-1 raka prostaty, zmodyfikowana genetycznie w celu stabilnej ekspresji genu reporterowego lucyferazy świetlika. Pierwotna linia komórkowa RM-1 została wyhodowana z raka gruczołu krokowego myszy, pochodzącego z tkanki płodu szczura rasy C57BL/6 w 17. dniu życia płodowego i stanowi szybko rosnący, niezależny od androgenów model raka prostaty na tle syngenicznym szczurów rasy C57BL/6. Komórki RM-1 wykazują morfologię nabłonkową, wyrażają typowe markery raka prostaty i tworzą agresywne nowotwory u immunokompetentnych myszy C57BL/6, co sprawia, że model ten nadaje się do badania interakcji między nowotworem a układem odpornościowym oraz do oceny strategii immunoterapii przeciwko rakowi prostaty.

Stabilna integracja lucyferazy w linii RM-1-Luc umożliwia czułe, nieinwazyjne obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) wzrostu guza pierwotnego i rozprzestrzeniania się przerzutów u żywych myszy C57BL/6 po podaniu lucyferyny. Emitowany sygnał koreluje z liczbą żywych komórek nowotworowych, co umożliwia długoterminową ocenę wszczepienia guza, kinetyki wzrostu oraz odpowiedzi na leczenie bez konieczności powtarzania inwazyjnych procedur. Linia RM-1-Luc jest szczególnie cenna w przedklinicznej ocenie inhibitorów punktów kontrolnych, strategii deprywacji androgenów oraz podejść opartych na immunoterapii skojarzonej w modelu raka prostaty u myszy z prawidłową odpornością.

RM-1-Luc zachowuje kluczowe cechy biologiczne macierzystej linii RM-1, w tym wzrost niezależny od androgenów, syngeniczną zgodność z myszami C57BL/6 oraz ugruntowane zastosowanie w badaniach nad rakiem prostaty. Reporter lucyferazy zwiększa czułość eksperymentalną i umożliwia ocenę farmakodynamiczną w czasie rzeczywistym. Przed zastosowaniem in vivo na dużą skalę naukowcy powinni zweryfikować aktywność lucyferazy, kinetykę wzrostu oraz fenotyp immunologiczny w swoich konkretnych warunkach eksperymentalnych.

Organism

Mysz

Tissue

Prostata

Disease

Rak gruczołu krokowego

Synonyms

RM1

Charakterystyka

Breed/Subspecies

C57BL/6

Age

17 dni płodowych

Gender

Męczyzna

Morphology

Nabłonek

Komórki RM-1-Luc | 305703

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

RM-1-Luc (numer katalogowy Cytion 305703)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_E3IK

GMO Status

GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowaną kasetę reporterową z lucyferazą świetlika (Luc2, zoptymalizowaną pod kątem kodonów), wprowadzoną za pomocą transdukcji lentiwirusowej bez zdolności do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Antigen expression

Luc2 (światlik, zoptymalizowany pod kątem kodonów)

Obsługa

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase – 5 minut, temperatura pokojowa

Subculturing

Usuń 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.

Split ratio

od 1 do 3

Komórki RM-1-Luc | 305703

Seeding density od 1 do 4×10^4 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 RM-1-Luc | 305703

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 i analiza molekularna