

Клетки B16-F10-Luc | 305658

Обща информация

Description

B16-F10-Luc е биолуминесцентен вариант на мишия меланомни клетъчен линия B16-F10, която първоначално е била създадена от спонтанен меланом, възникнал при мишка от линия C57BL/6. Родителската линия B16-F10 се използва широко в изследванията на рака благодарение на високия си метастатичен потенциал и стабилното, възпроизводимо присаждане в сингенени приемници от линия C57BL/6. В клетките B16-F10-Luc генът на луциферазата е стабилно интегриран под контрола на конститутивно активен промотор (обикновено EF-1 α или CMV) чрез лентивирусна трансдукция, което води до високо ниво на стабилна експресия на луциферазата през всички пасажи.

Клетките B16-F10-Luc излъчват биолуминесцентен сигнал в присъствието на субстрат луциферин, което позволява неинвазивно, количествено *in vivo* биолуминесцентно изображение (BLI) на туморния растеж, разпространението и метастазите при живи животни. Линията е подходяща както за подкожни, така и за интравенозни (експериментални метастази) модели при мишки C57BL/6, като метастатичните колонии се образуват предимно в белите дробове. Луминесцентният изход е линейно пропорционален на броя на жизнеспособните клетки, което позволява наблюдение в реално време и в дългосрочен план на туморното натоварване, без да се налага жертването на животни във всеки момент. Експресията на луциферазата не променя значително кинетиката на растежа *in vitro* или *in vivo* на клетките B16-F10.

Основните приложения включват оценка на антитуморни средства, имунотерапии и съединения, инхибиращи метастазите, в сингенни модели, както и количествено фармакодинамично изобразяване в предклинични онкологични проучвания.

Organism

Мишка

Tissue

Кожа

Disease

Меланом на мишка

Характеристики

Breed/Subspecies

C57BL/6

Gender

Мъжки

Morphology

Смес от вретеновидни и епителни клетки

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Citation

B16-F10-Luc (каталожен номер на Cytion 305658)

Клетки B16-F10-Luc | 305658

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегрирана репортерна касета с луцифераза от светулка (Luc2, кодон-оптимизирана), въведена чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression Luc**Antigen expression** Luc2 (светулка, с оптимизирани кодони)**Products** Меланин**MSI-status**

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Клетки B16-F10-Luc | 305658

Seeding density 1 до 3×10^4 клетки/ cm^2

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $200 \times g$ в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки B16-F10-Luc | 305658

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ