

Buňky B16-F10-Luc | 305658**Obecné informace****Description**

B16-F10-Luc je bioluminiscenční derivát myší melanomové buněčné linie B16-F10, která byla původně izolována ze spontánního melanomu vzniklého u myši C57BL/6. Původní linie B16-F10 je v onkologickém výzkumu široce využívána díky svému vysokému metastatickému potenciálu a silné, reprodukovatelné implantaci u syngenních hostitelů C57BL/6. V buňkách B16-F10-Luc byl gen luciferázy stabilně integrován pod kontrolou konstitutivně aktivního promotoru (obvykle EF-1 α nebo CMV) pomocí lentivirové transdukce, což vede k vysoké a stabilní expresi luciferázy napříč pasážemi.

Buňky B16-F10-Luc vyzařují bioluminiscenční signál v přítomnosti substrátu luciferinu, což umožňuje neinvazivní, kvantitativní in vivo bioluminiscenční zobrazování (BLI) růstu nádoru, šíření a metastázování u živých zvířat. Tato linie je vhodná jak pro subkutánní, tak pro intravenózní (experimentální metastázy) modely u myši C57BL/6, přičemž metastatické kolonie se tvoří preferenčně v plicích. Luminescenční výstup je lineárně úměrný počtu životaschopných buněk, což umožňuje longitudinální monitorování nádorové zátěže v reálném čase bez nutnosti usmrcování zvířat v jednotlivých časových bodech. Expresce luciferázy významně nemění kinetiku růstu buněk B16-F10 in vitro ani in vivo.

Mezi klíčové aplikace patří hodnocení protinádorových látek, imunoterapií a sloučenin inhibujících metastázy v syngenních modelech, stejně jako kvantitativní farmakodynamické zobrazování v preklinických onkologických studiích.

Organism

Myš

Tissue

Kůže

Disease

Myší melanom

Charakteristika**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Muži

Morphology

Směs vřetenovitých a epitelálních buněk

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

B16-F10-Luc (katalogové číslo Cytion 305658)

Biosafety level

1

Buňky B16-F10-Luc | 305658

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovanou reportérovou kazetu s luciferázou světlušky (Luc2, s optimalizovanými kodony), která byla zavedena pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression Luc

Antigen expression Luc2 (světluška, s optimalizovanými kodony)

Products Melanin

MSI-status

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Seeding density 1 až 3 x 10⁴ buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Buňky B16-F10-Luc | 305658

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaného v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza