

B16-F10-Luc-celler | 305658**Generel information****Description**

B16-F10-Luc er et bioluminescerende derivat af den murine melanomcellelinje B16-F10, som oprindeligt blev etableret ud fra et spontant melanom opstået hos en C57BL/6-mus. Den oprindelige B16-F10-linje anvendes i vid udstrækning i kræftforskning på grund af dens høje metastasepotentiale og robuste, reproducerbare inkorporering i syngene C57BL/6-værter. I B16-F10-Luc-celler er et luciferasegen blevet stabilt integreret under kontrol af en konstant aktiv promotor (typisk EF-1 α eller CMV) ved hjælp af lentiviral transduktion, hvilket resulterer i et højt og stabilt luciferaseekspression på tværs af passager.

B16-F10-Luc-celler udsender et bioluminescerende signal i nærværelse af et luciferinsubstrat, hvilket muliggør ikke-invasiv, kvantitativ in vivo bioluminescensbilleddannelse (BLI) af tumorvækst, spredning og metastase i levende dyr. Linjen er velegnet til både subkutane og intravenøse (eksperimentelle metastase) modeller i C57BL/6-mus, hvor metastatiske kolonier fortrinsvis dannes i lungerne. Luminescensudbyttet er lineært proportionalt med antallet af levedygtige celler, hvilket muliggør realtids, langsgående overvågning af tumorbyrden uden aflivning af dyr på hvert tidspunkt. Luciferase-ekspression ændrer ikke signifikant in vitro- eller in vivo-vækstkinetikken for B16-F10-celler.

Vigtige anvendelsesområder omfatter evaluering af antitumormidler, immunterapier og metastasehæmmende forbindelser i syngene modeller samt kvantitativ farmakodynamisk billedannelse i prækliniske onkologiske studier.

Organism

Mus

Tissue

Hud

Disease

Melanom hos mus

Karakteristika**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mand

Morphology

Blanding af spindelformede og epitellignende celler

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data**Citation**

B16-F10-Luc (Cytion-katalognummer 305658)

Biosafety level

1

B16-F10-Luc-celler | 305658**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: Denne cellelinje indeholder en stabilt integreret reporter-kassette med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimeret), der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data**Protein expression** Luc**Antigen expression** Luc2 (ildflue, kodonoptimeret)**Products** Melanin**MSI-status****Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1 til 3×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

B16-F10-Luc-celler | 305658

Freeze medium

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede celler sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse