

B16-F10-Luc rakud | 305658**Üldine teave****Description**

B16-F10-Luc on hiire melanoomi rakuliini B16-F10 bioluminestsentsne derivaat, mis loodi algselt C57BL/6 hiirel spontaanselt tekkinud melanoomi põhjal. Ema-rakuliini B16-F10 kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes tänu selle suurele metastaaside tekkimise potentsiaalile ning tugevale ja korratavale juurdumisele süngeneetsetesse C57BL/6 peremeesorganismidesse. B16-F10-Luc rakkudes on lentiviiruse transduktsiooni abil stabiilselt integreeritud lusiferase geen konstitutiivselt aktiivse promootori (tavaliselt EF-1 α või CMV) kontrolli all, mille tulemuseks on kõrgetasemeline ja stabiilne lusiferase ekspressioon kogu passaažide vältel.

B16-F10-Luc rakud kiirgavad bioluminestsentssignaali lusiferini substraadi juuresolekul, võimaldades elusloomadel teha mitteinvasiivset, kvantitatiivset in vivo bioluminestsentskuvamist (BLI) kasvaja kasvu, leviku ja metastaaside jälgimiseks. See liin sobib nii subkutaansete kui ka intravenoosete (eksperimentaalsete metastaaside) mudelite jaoks C57BL/6 hiirtel, kus metastaatilised kolooniad moodustuvad eelistatult kopsudes. Luminesentsi väljund on lineaarselt proportsionaalne eluvõimeliste rakkude arvuga, võimaldades kasvajakoomuse reaalajas pikaajalist jälgimist ilma loomade ohverdamiseta igal ajahetkel. Lusiferaasi ekspressioon ei muuda oluliselt B16-F10 rakkude in vitro või in vivo kasvukineetikat.

Peamised rakendused hõlmavad kasvjavastaste ravimite, immunoteraapiate ja metastaase pärssivate ühendite hindamist süngeneetsetes mudelites, samuti kvantitatiivset farmakodünaamilist kuvamist prekliinilistes onkoloogiauuringutes.

Organism

Hiir

Tissue

Nahk

Disease

Hiire melanoom

Omadused**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mees

Morphology

Spindli- ja epiteelilaadsete rakkude segu

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed**Citation**

B16-F10-Luc (Cytioni katalooginumber 305658)

Biosafety level

1

B16-F10-Luc rakud | 305658

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbsse lucifereesi reporterkaasetti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/ml). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Luc

Antigen expression Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)

Products Melaniin

MSI-status

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1 kuni 3×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

B16-F10-Luc rakud | 305658

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs