

B16-F10-Luc-solut | 305658**Yleisiä tietoja****Description**

B16-F10-Luc on bioluminesoiva johdannainen B16-F10-hiirimelanoomasolulinjasta, joka on alun perin peräisin C57BL/6-hiiressä spontaanisti kehittyneestä melanoomasta. Alkuperäistä B16-F10-solulinjaa käytetään laajalti syöpätutkimuksessa sen suuren metastaattisen potentiaalin sekä vankan ja toistettavan elinsiirron ansiosta syngeneisissä C57BL/6-isäntäeläimissä. B16-F10-Luc-soluissa lusiferaasigeeni on integroitu stabiilisti konstitutiivisesti aktiivisen promoottorin (yleensä EF-1 α tai CMV) ohjaukseen lentiviruksen välityksellä, mikä johtaa korkeatasoiseen ja stabiiliin lusiferaasin ilmentymiseen soluviljelmien välillä.

B16-F10-Luc-solut lähettävät bioluminesenssisignaalia lusiferin-substraatin läsnä ollessa, mikä mahdollistaa elävien eläinten kasvaimen kasvun, leviämisen ja etäpesäkkeiden ei-invasiivisen, kvantitatiivisen in vivo -bioluminesenssikuvantamisen (BLI). Kanta sopii sekä subkutaanisiin että laskimonsisäisiin (kokeelliset metastaasit) malleihin C57BL/6-hiirillä, ja metastaattiset pesäkkeet muodostuvat ensisijaisesti keuhkoihin. Luminesenssituohto on lineaarisesti verrannollinen elävien solujen lukumäärään, mikä mahdollistaa kasvaimen kuormituksen reaaliaikaisen, pitkäaikaisen seurannan ilman eläinten uhraamista kussakin ajankohdassa. Lusiferaasin ilmentyminen ei muuta merkittävästi B16-F10-solujen in vitro- tai in vivo -kasvukineettistä.

Tärkeimpiä sovelluksia ovat syövänhoitovalmisteiden, immunoterapioiden ja metastaaseja estävien yhdisteiden arviointi syngeneisissä malleissa sekä kvantitatiivinen farmakodynaaminen kuvantaminen prekliinisissä onkologiatutkimuksissa.

Organism

Hiiri

Tissue

Iho

Disease

Hiiren melanooma

Ominaisuudet**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mies

Morphology

Sekoitus karanmuotoisia ja epiteelin kaltaisia soluja

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot**Citation**

B16-F10-Luc (Cytion-tuotenumero 305658)

Biosafety level

1

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

GMO Status GMO-S1: Tämä solulinja sisältää vakaasti integroidun tulikärpäsän lusiferaasi-raportointikasetin (Luc2, kodonien suhteen optimoitu), joka on tuotu soluihin replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyylitiedot**Protein expression** Luc**Antigen expression** Luc2 (tulikärpäsän, kodonoptimoitu)**Products** Melaniini**MSI-status****Käsittely**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1–3 x 10⁴ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

B16-F10-Luc-solut | 305658

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 -- 196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi