

B16-F10-Luc sejtek | 305658**Általános információk****Description**

A B16-F10-Luc a B16-F10 egér melanóma sejtvonal biolumineszcens származéka, amelyet eredetileg egy C57BL/6 egérben kialakult spontán melanómából állítottak elő. Az eredeti B16-F10 vonalat széles körben használják a rákkutatásban, mivel nagy a metasztatikus potenciálja, és színgén C57BL/6 gazdaszervezetekben erőteljes, reprodukálható beültetődést mutat. A B16-F10-Luc sejtekben egy luciferáz gént integráltak stabilan egy konstitutív módon aktív promóter (általában EF-1 α vagy CMV) irányítása alatt lentivirális transzdukcióval, ami magas szintű, stabil luciferáz expressziót eredményez a passzázsok során.

A B16-F10-Luc sejtek luciferin szubsztrát jelenlétében biolumineszcens jelet bocsátanak ki, lehetővé téve a tumor növekedésének, terjedésének és metasztázisának nem invazív, kvantitatív in vivo biolumineszcens képalkotását (BLI) élő állatokban. A vonal alkalmas mind szubkután, mind intravénás (kísérleti metasztázis) modellekhez C57BL/6 egerekben, ahol a metasztatikus kolóniák elsősorban a tüdőben alakulnak ki. A lumineszcencia kimenet lineárisan arányos az életképes sejtek számával, ami lehetővé teszi a tumorterhelés valós idejű, longitudinális monitorozását anélkül, hogy az egyes időpontokban állatokat kellene leölni. A luciferáz expresszió nem változtatja meg jelentősen a B16-F10 sejtek in vitro vagy in vivo növekedési kinetikáját.

A legfontosabb alkalmazások közé tartozik a daganatellenes szerek, immunterápiák és metasztázisgátló vegyületek értékelése színgén modellekben, valamint a kvantitatív farmakodinamikai képalkotás preklinikai onkológiai vizsgálatokban.

Organism

Egér

Tissue

Bőr

Disease

Egér melanoma

Jellemzők**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Férfi

Morphology

Orsó alakú és hámszerű sejtek keveréke

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok**Citation**

B16-F10-Luc (Cytion katalógusszám: 305658)

Biosafety level

1

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

GMO Status GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált szentjánosbogár-luciferáz riporterkazettát (Luc2, kodonoptimalizált) tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) mellett tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok**Protein expression** Luc**Antigen expression** Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)**Products** Melanin**MSI-status****A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadéokban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1–3 x 10⁴ sejt/cm²

B16-F10-Luc sejtek | 305658**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuspenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 200 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

**Incubation
Atmosphere** 37°C, 5% CO_2 , párasított légkör.**Shipping
Conditions** A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.**Storage
Conditions** Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.**Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés**