

B16-F10-Luc ląstelės | 305658

Bendra informacija

Description

B16-F10-Luc yra bioluminescencinis pelės melanomos ląstelių linijos B16-F10 variantas, kuris iš pradžių buvo išskirtas iš spontaniškos melanomos, atsiradusios C57BL/6 pelėje. Pirminė B16-F10 linija plačiai naudojama vėžio tyrimuose dėl savo didelio metastazavimo potencialo ir tvirto, pakartojamo įsitvirtinimo singeniniuose C57BL/6 šeiminukuose. B16-F10-Luc ląstelėse luciferazės genas buvo stabiliai integruotas, kontroliuojant nuolat aktyvų promotorių (paprastai EF-1α arba CMV) lentivirusine transdukcija, todėl pasiekiamas aukšto lygio, stabilus luciferazės ekspresijos lygis per visus pasėlių kartus.

B16-F10-Luc ląstelės skleidžia bioluminescencinį signalą esant liuciferino substratui, o tai leidžia atlikti neinvazinį, kiekybinį in vivo bioluminescencinį vaizdinimą (BLI) naviko augimo, išplitimo ir metastazių gyvuose gyvūnuose. Ši linija tinka tiek poodiniams, tiek intraveniniams (eksperimentinės metastazės) modeliams C57BL/6 pelėse, o metastazinės kolonijos susidaro daugiausia plaučiuose. Luminescencijos intensyvumas yra tiesiogiai proporcingas gyvybingų ląstelių skaičiui, todėl galima realiuoju laiku stebėti naviko apkrovą be gyvūnų aukojimo kiekvienu laiko momentu. Luciferazės ekspresija reikšmingai nekeičia B16-F10 ląstelių augimo kinetikos in vitro ar in vivo.

Pagrindinės taikymo sritys apima priešvėžinių vaistų, imunoterapijos ir metastazių slopinančių junginių vertinimą singeniniuose modeliuose, taip pat kiekybinį farmakodinaminį vaizdinimą ikiklinikiniuose onkologijos tyrimuose.

Organism	Pelė
Tissue	Odos
Disease	Pelės melanoma

Charakteristikos

Breed/Subspecies	C57BL/6
Gender	Vyras
Morphology	Verpstės formos ir į epitelį panašių ląstelių mišinys
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	B16-F10-Luc (Cytion katalogo numeris 305658)
Biosafety level	1

B16-F10-Luc ląstelės | 305658

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression Luc

Antigen expression Luc2 (vabalas, kodonų optimizuotas)

Products Melaninas

MSI-status

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1–3 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

B16-F10-Luc ląstelės | 305658

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $200 \times g$ greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė