

B16-F10-Luc šūnas | 305658**Vispārīga informācija****Description**

B16-F10-Luc ir bioluminiscentis atvasinājums no peles melanomas šūnu līnijas B16-F10, kas sākotnēji tika izveidota no spontānas melanomas, kas radās C57BL/6 pelē. Mātes līnija B16-F10 tiek plaši izmantota vēža pētniecībā, pateicoties tās augstajam metastāžu potenciālam un stabilai, reproducējamai implantācijai singēniskos C57BL/6 saimniekos. B16-F10-Luc šūnās luciferāzes gēns ir stabili integrēts konstitutīvi aktīva promotora (parasti EF-1α vai CMV) kontrolē, izmantojot lentivīrusu transdukciju, kā rezultātā tiek nodrošināta augsta līmeņa, stabila luciferāzes ekspresija visās pasāžās.

B16-F10-Luc šūnas izstaro bioluminiscences signālu luciferīna substrāta klātbūtnē, ļaujot veikt neinvazīvu, kvantitatīvu in vivo bioluminiscences attēlveidošanu (BLI) audzēja augšanai, izplatībai un metastāzēm dzīvos dzīvniekos. Šī līnija ir piemērota gan subkutāniem, gan intravenozajiem (eksperimentālās metastāzes) modeļiem C57BL/6 pelēm, metastātiskajām kolonijām veidojoties galvenokārt plaušās. Luminescences intensitāte ir lineāri proporcionāla dzīvotspējīgo šūnu skaitam, ļaujot reāllaikā un gareniski uzraudzīt audzēja apjomu, neupurējot dzīvniekus katrā laika punktā. Luciferāzes ekspresija būtiski nemaina B16-F10 šūnu augšanas kinētiku in vitro vai in vivo.

Galvenās lietošanas jomas ietver pretvēža līdzekļu, imūnterapiju un metastāžu inhibējošu savienojumu novērtēšanu singēniskos modeļos, kā arī kvantitatīvo farmakodinamisko attēlveidošanu pirmsklīniskajos onkoloģijas pētījumos.

Organism

Pele

Tissue

Āda

Disease

Peles melanoma

Raksturojums**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Vīrieši

Morphology

Vārpveida un epitēlijveidīgu šūnu maisījums

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati**Citation**

B16-F10-Luc (Cytion kataloga numurs 305658)

Biosafety level

1

B16-F10-Luc šūnas | 305658

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterkāsešu (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression Luc

Antigen expression Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)

Products Melanīns

MSI-status

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaigā barotne.

Seeding density 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

B16-F10-Luc šūnas | 305658**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze