

B16-F10-Luc-cellen | 305658**Algemene informatie****Description**

B16-F10-Luc is een bioluminescent derivaat van de B16-F10-muizenmelanoomcellijn, die oorspronkelijk is geïsoleerd uit een spontaan melanoom bij een C57BL/6-muis. De oorspronkelijke B16-F10-lijn wordt op grote schaal gebruikt in kankeronderzoek vanwege het hoge metastatische potentieel en de robuuste, reproduceerbare engraftment in syngene C57BL/6-gastheren. In B16-F10-Luc-cellen is een luciferase-gen stabiel geïntegreerd onder de controle van een constitutief actieve promotor (meestal EF-1 α of CMV) door middel van lentivirale transductie, wat resulteert in een hoog niveau van stabiele luciferase-expressie over verschillende passages heen.

B16-F10-Luc-cellen zenden een bioluminescent signaal uit in aanwezigheid van een luciferinesubstraat, waardoor niet-invasieve, kwantitatieve in vivo bioluminescentiebeeldvorming (BLI) van tumorgroei, verspreiding en metastase in levende dieren mogelijk is. De lijn is geschikt voor zowel subcutane als intraveneuze (experimentele metastase) modellen in C57BL/6-muizen, waarbij metastatische kolonies zich bij voorkeur in de longen vormen. De luminescentie-output is lineair evenredig aan het aantal levensvatbare cellen, waardoor realtime, longitudinale monitoring van de tumorbelasting mogelijk is zonder dat dieren op elk tijdstip moeten worden geofferd. Luciferase-expressie verandert de in vitro of in vivo groeikinetiek van B16-F10-cellen niet significant.

Belangrijke toepassingen zijn onder meer de evaluatie van antitumormiddelen, immuuntherapieën en metastase-remmende verbindingen in syngene modellen, evenals kwantitatieve farmacodynamische beeldvorming in preklinische oncologische studies.

Organism

Muis

Tissue

Huid

Disease

Muis melanoom

Kenmerken**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mannelijk

Morphology

Mengsel van spoelvormige en epitheelachtige cellen

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens**Citation**

B16-F10-Luc (Cytion-catalogusnummer 305658)

B16-F10-Luc-cellen | 305658**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: Deze cellijn bevat een stabiel geïntegreerde vuurvlieg-luciferase-reportercassette (Luc2, codon-geoptimaliseerd) die is ingebracht via replicatie-incompetente lentivirale transductie. De resulterende polyklonale celpopulatie werd in stand gehouden onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1-beheersingsniveau is vereist. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens**Protein expression** Luc**Antigen expression** Luc2 (vuurvlieg, codon-geoptimaliseerd)**Products** Melanine**MSI-status****Omgaan met**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Seeding density 1 tot 3×10^4 cellen/cm²

B16-F10-Luc-cellen | 305658

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse