Product sheet

Komórki B16-F10-Luc | 305658

Informacje ogólne

Description	B16-F10-Luc to bioluminescencyjna odmiana mysiej linii komórkowej czerniaka B16-F10, która została pierwotnie wyhodowana z czerniaka spontanicznego powstałego u myszy C57BL/6. Macierzysta linia B16-F10 jest szeroko stosowana w badaniach nad rakiem ze względu na swój wysoki potencjał przerzutowy oraz silne i powtarzalne wszczepienie u syngenicznych gospodarzy C57BL/6. W komórkach B16-F10-Luc gen lucyferazy został stabilnie zintegrowany pod kontrolą konstytutywnie aktywnego promotora (zwykle EF-1α lub CMV) poprzez transdukcję lentiwirusową, co skutkuje wysokim poziomem stabilnej ekspresji lucyferazy w kolejnych pasażach. Komórki B16-F10-Luc emitują sygnał bioluminescencyjny w obecności substratu lucyferyny, umożliwiając nieinwazyjne, ilościowe obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) wzrostu guza, rozprzestrzeniania się i przerzutów u żywych zwierząt. Linia ta nadaje się zarówno do modeli podskórnych, jak i dożylnych (przeniesienie eksperymentalne) u myszy C57BL/6, przy czym kolonie przerzutowe tworzą się preferencyjnie w płucach. Emisja luminescencji jest liniowo proporcjonalna do liczby żywych komórek, co pozwala na monitorowanie obciążenia nowotworowego w czasie rzeczywistym i w ujęciu podłużnym bez konieczności uśmiercania zwierząt w każdym punkcie czasowym. Ekspresja lucyferazy nie zmienia znacząco kinetyki wzrostu komórek B16-F10 in vitro ani in vivo. Kluczowe zastosowania obejmują ocenę środków przeciwnowotworowych, immunoterapii i związków hamujących przerzuty w modelach syngenicznych, a także ilościowe obrazowanie farmakodynamiczne w przedklinicznych badaniach onkologicznych.
Organism	Mysz
Tissue	Skóra
Disease	Czerniak myszy

Charakterystyka

Breed/Subspecies	C57BL/6
Gender	Mężczyzna
Morphology	Mieszanka komórek wrzecionowatych i nabłonkowych
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	B16-F10-Luc (numer katalogowy Cytion 305658)

Product sheet

Komórki B16-F10-Luc | 305658

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_C8XU
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowaną kasetę reporterową z lucyferazą świetlika (Luc2, zoptymalizowaną pod kątem kodonów), wprowadzoną za pomocą transdukcji lentiwirusowej bez zdolności do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	Luc
Antigen expression	Luc2 (świetlik, zoptymalizowany pod kątem kodonów)
Products	Melanina
MSI-status	

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Seeding density	1 do 3 x $10^{4\ \text{komórek}}/\text{cm}^2$

Komórki B16-F10-Luc | 305658

Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki B16-F10-Luc | 305658

Kontrola jakości i analiza molekularna