

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-1 α 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

Męczyzna

Morphology

Mieszanina komórek wrzecionowatych i nabłonkowych

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne**Citation**

B16-F10-Luc (numer katalogowy Cytion 305658)

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 (światlik, 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 Usun 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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Seeding density 1 do 3×10^4 komórek/cm²

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 przepływowej, 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 $200 \times g$ 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% CO_2 , 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