

**Células B16-F10-Luc | 305658****Informações gerais****Description**

A B16-F10-Luc é um derivado bioluminescente da linha celular de melanoma murino B16-F10, que foi originalmente estabelecida a partir de um melanoma espontâneo surgido num rato C57BL/6. A linha parental B16-F10 é amplamente utilizada na investigação do cancro devido ao seu elevado potencial metastático e à sua enxertia robusta e reprodutível em hospedeiros singénicos C57BL/6. Nas células B16-F10-Luc, um gene da luciferase foi integrado de forma estável sob o controlo de um promotor constitutivamente ativo (geralmente EF-1 $\alpha$  ou CMV) por transdução lentiviral, resultando numa expressão estável e de alto nível da luciferase ao longo das passagens.

As células B16-F10-Luc emitem um sinal bioluminescente na presença de um substrato de luciferina, permitindo a imagiologia bioluminescente (BLI) in vivo, não invasiva e quantitativa, do crescimento, disseminação e metástase tumoral em animais vivos. A linha é adequada tanto para modelos subcutâneos como intravenosos (metástase experimental) em ratos C57BL/6, com colónias metastáticas a formarem-se preferencialmente nos pulmões. A emissão de luminescência é linearmente proporcional ao número de células viáveis, permitindo a monitorização longitudinal em tempo real da carga tumoral sem sacrifício de animais em cada ponto temporal. A expressão de luciferase não altera significativamente a cinética de crescimento in vitro ou in vivo das células B16-F10.

As principais aplicações incluem a avaliação de agentes antitumorais, imunoterapias e compostos inibidores de metástases em modelos singénicos, bem como a imagiologia farmacodinâmica quantitativa em estudos oncológicos pré-clínicos.

**Organism**

Rato

**Tissue**

Pele

**Disease**

Melanoma do ratinho

**Caraterísticas****Breed/Subspecies**

C57BL/6

**Gender**

Masculino

**Morphology**

Mistura de células fusiformes e epiteliais

**Growth properties**

Aderente

**Dados regulamentares****Citation**

B16-F10-Luc (número de catálogo Cytion 305658)

**Células B16-F10-Luc | 305658****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_C8XU

**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular contém uma cassete repórter de luciferase de pirilampo (Luc2, com códons otimizados) integrada de forma estável, introduzida através de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

**Dados biomoleculares****Protein expression** Luc**Antigen expression** Luc2 (firefly, com codões otimizados)**Products** Melanina**MSI-status****Manuseamento**

**Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Seeding density** 1 a  $3 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

## Células B16-F10-Luc | 305658

**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 200 x g durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosfera humidificada.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

**Células B16-F10-Luc | 305658**

**Controlo de Qualidade e Análise Molecular**