

Bunky B16-F10-Luc | 305658**Všeobecné informácie****Description**

B16-F10-Luc je bioluminiscenčný derivát myšieho melanómového bunkového radu B16-F10, ktorý bol pôvodne izolovaný zo spontánneho melanómu vzniknutého u myši C57BL/6. Rodičovský rad B16-F10 sa vďaka svojmu vysokému metastatickému potenciálu a spoľahlivému, reprodukovateľnému prihojeniu v syngénnych hostiteľoch C57BL/6 široko využíva vo výskume rakoviny. V bunkách B16-F10-Luc bol gén luciferázy stabilne integrovaný pod kontrolou konštitatívne aktívneho promotora (zvyčajne EF-1 α alebo CMV) prostredníctvom lentivírusovej transdukcie, čo vedie k vysokej a stabilnej expresii luciferázy v priebehu pasáží.

Bunky B16-F10-Luc emitujú bioluminiscenčný signál v prítomnosti substrátu luciferínu, čo umožňuje neinvazívne, kvantitatívne in vivo bioluminiscenčné zobrazovanie (BLI) rastu nádoru, šírenia a metastázovania u živých zvierat. Táto línia je vhodná pre subkutánne aj intravenózne (experimentálne metastázy) modely u myši C57BL/6, pričom metastatické kolónie sa tvoria preferenčne v pľúcach. Výkon luminiscencie je lineárne úmerný počtu životaschopných buniek, čo umožňuje longitudinálne monitorovanie nádorovej záťaže v reálnom čase bez nutnosti usmrcovania zvierat v každom časovom bode. Expresia luciferázy významne nemení kinetiku rastu buniek B16-F10 in vitro ani in vivo.

Kľúčové aplikácie zahŕňajú hodnotenie protinádorových látok, imunoterapií a zlúčenín inhibujúcich metastázy v syngénnych modeloch, ako aj kvantitatívne farmakodynamické zobrazovanie v predklinických onkologických štúdiách.

Organism	Myš
Tissue	Koža
Disease	Myší melanóm

Charakteristika

Breed/Subspecies	C57BL/6
Gender	Muži
Morphology	Zmes vretenovitých a epitelových buniek
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	B16-F10-Luc (katalógové číslo Cytion 305658)
-----------------	----------------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

Bunky B16-F10-Luc | 305658

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_C8XU

Biomolekulárne údaje

Protein expression Luc

Products Melanín

MSI-status

SpracovanieCulture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1 až 3 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletne rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Bunky B16-F10-Luc | 305658

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladovanie pri teplote $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA