Product sheet

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 konštitutívne aktívneho promotora (zvyčajne EF-1α 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 myší C57BL/6, pričom metastatické kolónie sa preferenčne tvoria 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
GMO Status	GMO-S1: Táto bunková línia obsahuje stabilne integrovanú reportérovú kazetu s luciferázou svätojánskej mušky (Luc2, s optimalizovanými kodónmi), ktorá bola zavedená prostredníctvom lentivírusovej transdukcie bez schopnosti replikácie. Výsledná polyklonálna bunková populácia bola udržiavaná pod selekciou puromycínom (1–5 µg/ml). Je vyžadované bezpečnostné opatrenie triedy S1. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Luc
Antigen expression	Luc2 (svetluška, s optimalizovanými kodónmi)
Products	Melanín
MSI-status	

Spracovanie

Culture 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	Doplňte 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 odstreďujte 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 10^{4} buniek/cm^{2}
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne

Bunky B16-F10-Luc | 305658

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

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 °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 °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 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza