

Celice B16-F10-Luc | 305658**Splošne informacije****Description**

B16-F10-Luc je bioluminiscenčni derivat mišje celične linije melanoma B16-F10, ki je bila prvotno vzpostavljena iz spontanega melanoma, nastalega pri miški C57BL/6. Izvorna linija B16-F10 se zaradi svojega visokega metastaznega potenciala ter trdnega in ponovljivega prijemanja v singenih gostiteljih C57BL/6 široko uporablja v raziskavah raka. V celicah B16-F10-Luc je bil gen za luciferazo stabilno integriran pod nadzorom konstitutivno aktivnega promotorja (običajno EF-1 α ali CMV) z lentiviralno transdukcijo, kar ima za posledico visoko raven stabilne ekspresije luciferaze skozi vse pasaze.

Celice B16-F10-Luc oddajajo bioluminiscenčni signal v prisotnosti substrata luciferina, kar omogoča neinvazivno, kvantitativno in vivo bioluminiscenčno slikanje (BLI) rasti tumorja, širjenja in metastaziranja pri živih živalih. Linija je primerna za subkutane in intravenske (eksperimentalne metastaze) modele pri miših C57BL/6, pri čemer se metastatske kolonije prednostno tvorijo v pljučih. Luminescenčni izhod je linearno sorazmeren s številom živih celic, kar omogoča longitudinalno spremljanje tumorja v realnem času brez žrtvovanja živali v vsakem časovnem trenutku. Ekspresija luciferaze ne spreminja bistveno kinetične rasti celic B16-F10 in vitro ali in vivo.

Ključne aplikacije vključujejo ocenjevanje protitumorskih sredstev, imunoterapij in spojin, ki zavirajo metastaze, v singenih modelih, kot tudi kvantitativno farmakodinamično slikanje v predkliničnih onkoloških študijah.

Organism

Miška

Tissue

Koža

Disease

Mišji melanom

Značilnosti**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Moški

Morphology

Mešanica vretenastih in epitelijam podobnih celic

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki**Citation**

B16-F10-Luc (katalogska številka Cytion 305658)

Biosafety level

1

Celice B16-F10-Luc | 305658**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_C8XU

GMO Status GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeno poročevalsko kaseto luciferaze svetlečega črviča (Luc2, kodonsko optimizirano), ki je bila vnesena z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna celična populacija je bila vzdrževana pod selekcijo s puomicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki**Protein expression** Luc**Antigen expression** Luc2 (svetlobna mušica, kodonsko optimizirana)**Products** Melanin**MSI-status****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1 do 3×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

Celice B16-F10-Luc | 305658

Freeze medium

Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavrzite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza