

B16-F10-Luc hücreleri | 305658**Genel bilgi****Description**

B16-F10-Luc, aslen bir C57BL/6 faresinde ortaya çıkan spontan bir melanomdan elde edilen B16-F10 fare melanom hücre hattının biyoluminesan bir türevidir. Ana B16-F10 hattı, yüksek metastaz potansiyeli ve singenik C57BL/6 konakçılarda sağlam, tekrarlanabilir greftleme özelliği nedeniyle kanser araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. B16-F10-Luc hücrelerinde, bir lusiferaz geni, lentiviral transdüksiyon yoluyla konstitütif olarak aktif bir promotörün (genellikle EF-1 α veya CMV) kontrolü altında stabil bir şekilde entegre edilmiştir; bu da pasajlar boyunca yüksek seviyede, stabil lusiferaz ekspresyonu ile sonuçlanmaktadır.

B16-F10-Luc hücreleri, bir lusiferin substratının varlığında biyoluminesan sinyal yayar ve bu da canlı hayvanlarda tümör büyümesi, yayılımı ve metastazının non-invaziv, kantitatif in vivo biyoluminesans görüntülemesini (BLI) mümkün kılar. Bu hücre hattı, C57BL/6 farelerde hem subkutan hem de intravenöz (deneysel metastaz) modeller için uygundur ve metastatik koloniler tercihen akciğerlerde oluşur. Lüminesans çıkışı, canlı hücre sayısı ile doğrusal olarak orantılıdır; bu da, her zaman noktasında hayvanları feda etmeden tümör yükünün gerçek zamanlı, uzunlamasına izlenmesine olanak tanır. Lusiferaz ekspresyonu, B16-F10 hücrelerinin in vitro veya in vivo büyüme kinetiklerini önemli ölçüde değiştirmez.

Başlıca uygulamalar arasında, singenik modellerde antitümör ajanların, immünoterapilerin ve metastazı inhibe eden bileşiklerin değerlendirilmesinin yanı sıra, preklinik onkoloji çalışmalarında kantitatif farmakodinamik görüntüleme yer almaktadır.

Organism

Fare

Tissue

Cilt

Disease

Fare melanomu

Özellikler**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Erkek

Morphology

İğ şeklindeki ve epitel benzeri hücrelerin karışımı

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler**Citation**

B16-F10-Luc (Cytion katalog numarası 305658)

Biosafety level

1

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

GMO Status GMO-S1: Bu hücre hattı, replikasyon yeteneği olmayan lentiviral transdüksiyon yoluyla eklenen, kararlı bir şekilde entegre edilmiş ateşböceği lusiferaz raportör kasetini (Luc2, kodon optimizasyonlu) içerir. Ortaya çıkan poliklonal hücre popülasyonu, puromisin seleksiyonu (1–5 µg/mL) altında muhafaza edilmiştir. S1 güvenlik sınıfı gereklidir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler**Protein expression** Luc**Antigen expression** Luc2 (ateşböceği, kodon optimizasyonlu)**Products** Melanin**MSI-status****Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density 1 ila 3×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez

B16-F10-Luc hücreleri | 305658

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz