Product sheet

Клітини B16-F10-Luc | 305658

Загальна інформація

Description	B16-F10-Luc — це біолюмінесцентний варіант клітинної лінії мишачої меланоми B16-F10, яка була спочатку отримана зі спонтанної меланоми, що виникла у миші C57BL/6. Базова лінія B16-F10 широко використовується в онкологічних дослідженнях завдяки високому метастатичному потенціалу та надійному, відтворюваному приживленню в сингенних реципієнтах C57BL/6. У клітинах B16-F10-Luc ген люциферази був стабільно інтегрований під контролем конституативно активного промотора (зазвичай EF-1α або CMV) шляхом лентивірусної трансдукції, що призвело до високого рівня стабільної експресії люциферази протягом усіх пасажів. Клітини B16-F10-Luc випромінюють біолюмінесцентний сигнал у присутності субстрату люциферину, що дозволяє проводити неінвазивну кількісну біолюмінесцентну візуалізацію (BLI) in vivo росту пухлини, її поширення та метастазування у живих тварин. Ця лінія підходить як для підшкірних, так і для внутрішньовенних (експериментальні метастази) моделей на мишах C57BL/6, причому метастатичні колонії переважно утворюються в легенях. Інтенсивність люмінесценції лінійно пропорційна кількості життєздатних клітин, що дозволяє здійснювати подовжене спостереження за пухлинним навантаженням у реальному часі без необхідності забивання тварин у кожній часовій точці. Експресія люциферази не змінює істотно кінетику росту клітин B16-F10 in vitro або in vivo. Основні сфери застосування включають оцінку протипухлинних препаратів, імунотерапії та сполук, що інгібують метастазування, у сингенних моделях, а також кількісну фармакодинамічну візуалізацію в доклінічних онкологічних дослідженнях.
Organism	Миша
Tissue	Шкіра
Disease	Меланома миші

Характеристики

Breed/Subspecies	C57BL/6
Gender	Чоловік
Morphology	Суміш веретеноподібних та епітеліоподібних клітин
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	B16-F10-Luc (номер у каталозі Cytion 305658)

Клітини B16-F10-Luc | 305658

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_C8XU
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія містить стабільно інтегровану репортерну касету люциферази світлячка (Luc2, з оптимізацією кодонів), введену шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції. Отриману поліклональну клітинну популяцію підтримували в умовах селекції пуроміцином (1–5 мкг/мл). Необхідний рівень біобезпеки S1. Ця класифікація діє лише на території Німеччини та може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	Люк
Antigen expression	Luc2 (світлячок, з оптимізованими кодонами)
Products	Меланін
MSI-status	

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Клітини B16-F10-Luc | 305658

Seeding density	Від 1 до 3 x 10^4 клітин/^{см2}
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Центрифугуйте суміш при 200 x g протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.

7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Клітини B16-F10-Luc | 305658

Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз