

B16 rakud | 305154**Üldine teave****Description**

B16 rakuliin on laialdaselt kasutatav hiirte mudel, mis on saadud C57BL/6 hiirte melanoomi kasvajatest. Seda rakuliini kasutatakse teadusuuringutes laialdaselt tänu selle võimele moodustada melanootilisi kasvajaid, mis sarnanevad kasvutunnuste ja metastaatilise potentsiaali poolest lähedalt inimese melanoomile. Rakuliinil on erinevaid alatüüpe, näiteks B16-F0, B16-F1 ja B16-F10, kusjuures iga alatüüp on erineva metastaatilise võimega; näiteks B16-F10 on võrreldes B16-F0-ga väga metastaatiline. Need erinevused võimaldavad teadlastel valida sobiva mudeli vastavalt oma uuringute spetsiifilistele nõuetele seoses kasvajate agressiivsuse ja metastaasiga.

B16-rakud on olulised melanoomi progresseerumise molekulaar- ja rakumehhanismide mõistmisel ja vähivastaste ravimeetodite katsetamisel. Nende melaniinootmise võime muudab nad eriti kasulikuks melanogeneesi ja selle regulatsiooni uurimiseks. Lisaks sellele on B16 rakuliin oluline vahend vaktsiinide arendamiseks ja immunoteraapia katsete tegemiseks, andes ülevaate kasvaja ja immuunsüsteemi vastastikmõjudest ning immunomoduleerivate ainete tõhususest. Nende rakkude kohanemisvõime erinevates in vivo ja in vitro keskkondades rõhutab nende tähtsust melanoomi raviks ja ennetamiseks tehtavates translatiivsetes ja prekliinilistes uuringutes.

Organism

Hiir

Tissue

Nahk

Disease

Hiire melanoom

Synonyms

B-16, B16 melanoom, B16 alamliin B78, B78

Omadused**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mees

Morphology

Spindli- ja epiteelilaadsete rakkude segu

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed**Citation**

B16 (Cytioni katalooginumber 305154)

Biosafety level

1

B16 rakud | 305154**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_F936**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Jah**Products** Melaniin**Töötlemine****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

B16 rakud | 305154

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

B16 rakud | 305154

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.