

B16-F0 rakud | 300308**Üldine teave****Description**

B16-F0 rakuliin on hiire melanoomi B16 rakuliin, mis on saadud hiire melanoomist. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes selle suure metastaatilise potentsiaali ja võime tõttu moodustada süngeensetele hiirtele süstimisel kasvaja. B16-F0 rakud on eriti kasulikud melanoomi progresseerumise ja metastaaside tekke aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks, samuti vähivastaste ravimite ja terapeutiliste sekkumiste tõhususe testimiseks prekliinilistes mudelites. Nimelt on B16-F0 rakuliin see rakuliin, millest on saadud teisi variante, nagu B16-F1, B16-F10 ja B16-BL6, selektiivsete menetluste abil, mille eesmärk on suurendada spetsiifilisi metastaatilisi omadusi.

B16-F0 rakkudel on tüüpiline epiteeli morfoloogia ja nad kasvavad kultuuris adherentselt. On teada, et nad ekspresseerivad erinevaid melanoomiga seotud antigene, mis teeb neist väärtusliku vahendi immunoloogilisteks uuringuteks ja melanoomi vaktsiinide väljatöötamiseks. Lisaks kasutatakse neid rakke sageli geeniekspressiooni, signaaliradasid ja kasvaja mikrokeskkonda käsitlevates uuringutes. Teadlased kasutavad B16-F0 rakke melanoomirakkude ja immuunsüsteemi vaheliste vastastikmõjude uurimiseks, keskendudes eelkõige immuunsüsteemi vältimise ja allasurumise mehhanismidele. B16-F0 ja sellest tuletatud liinide iseloomustamine annab tervikliku raamistiku melanoomi invasiivse ja metastaatilise käitumise mõistmiseks, kusjuures B16-F1, B16-F10 ja B16-BL6 esindavad kõik suureneva metastaatilise ja invasiivse aktiivsuse etappe, olles seega kriitilised mudelid vähi progresseerumise ja ravivastuse uurimisel.

Organism

Hiir

Tissue

Nahk

Disease

Hiire melanoom

Synonyms

B16/F0, B16F0

Omadused**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mees

Morphology

Spindli- ja epiteelilaadsete rakkude segu

Cell type

Epiteel

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

B16-F0 rakud | 300308**Citation** B16-F0 (Cytioni katalooginumber 300308)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0604**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Jah, süngeensetel hiirtel**Products** Melaniin**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel 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.**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-F0 rakud | 300308

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-F0 rakud | 300308

**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.