

B16-F10 rakud | 305157**Üldine teave****Description**

B16-F10 rakuliin on hiire B16 melanoomi rakuliini alamliin, mis on saadud hiire spontaanselt nahakasvajast. Neid rakke iseloomustab nende agressiivne metastaatiline potentsiaal, eriti kopsudes, mis teeb neist väärtusliku mudeli melanoomi progresseerumise ja metastaaside tekke uurimiseks. B16-F10 rakkudel on suur melaniinisaldus, mis aitab kaasa nende pigmentatsioonile ja mida kasutatakse markerina erinevates analüüsides rakkude proliferatsiooni ja kasvaja kasvu jälgimiseks. B16-F10 saadi kümnekordse selektiivse protseduuri abil, kasutades Fidleri meetodit, mis suurendab selle metastaatilist võimekust võrreldes selle vanemliini B16-F0 ja alamliiniga B16-F1, mille puhul kasutati ühekordset selektiivset protseduuri.

B16-F10 rakke kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes tänu nende võimele moodustada kasvajaid süngeensetes C57BL/6 hiirtel, mis on järjepidev ja korratav mudel in vivo uuringuteks. Need rakud ekspresseerivad erinevaid melanoomiga seotud antigeene, mis on olulised immuunvastuste uurimiseks ja immuunravimite väljatöötamiseks. Lisaks kasutatakse B16-F10 rakke kemoterapeutiliste ainete tõhususe ja melanoomi ravimresistentsuse aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide hindamiseks. Rakuliini geneetiline profiil ja käitumine erinevates katsetustingimustes annab ülevaate melanoomi metastaasis osalevatest radadest, mis aitab kaasa sihipäraste ravistrateegiate väljatöötamisele. On märkimisväärne, et B16-F10 derivaat B16-BL6 on veelgi suurema invasiivse aktiivsusega, mistõttu on B16-seeria põhjalik mudelisüsteem melanoomi bioloogia ja ravi erinevate aspektide uurimiseks.

Organism

Hiir

Tissue

Nahk

Disease

Hiire melanoom

Synonyms

B16/F10, B16 F10, B16F10, B16 melanoom F10

Omadused**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mees

Morphology

Spindli- ja epiteelilaadsete rakkude segu

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed**Citation**

B16-F10 (Cytioni katalooginumber 305157)

B16-F10 rakud | 305157

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0159

Biomolekulaarsed andmed

Products	Melaniin
-----------------	----------

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , 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 resuspendeerida, 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-F10 rakud | 305157**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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °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 vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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°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 °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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

B16-F10 rakud | 305157

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 ja molekulaaranalüüs

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.