

B16-solut | 305154**Yleisiä tietoja****Description**

B16-solulinja on laajalti käytetty hiirimalli, joka on peräisin C57BL/6-hiirten melanoomakasvaimista. Tätä linjaa käytetään laajalti tutkimuksessa, koska se kykenee muodostamaan melanoottisia kasvaimia, jotka muistuttavat läheisesti ihmisen melanoomaa kasvuominaisuuksiltaan ja etäpesäkkeellisyydeltään. Solulinjasta on olemassa erilaisia alatyyppejä, kuten B16-F0, B16-F1 ja B16-F10, ja kullakin alatyypillä on eriasteinen metastaattisuus; esimerkiksi B16-F10 on erittäin metastaattinen verrattuna B16-F0:aan. Näiden erojen ansiosta tutkijat voivat valita sopivan mallin kasvaimen aggressiivisuutta ja etäpesäkkeitä koskevien tutkimustensa erityisvaatimusten perusteella.

B16-solut ovat tärkeitä melanooman etenemisen molekyyli- ja solumekanismien ymmärtämisessä ja syöpähoitojen testaamisessa. Niiden melaniinia tuottava kyky tekee niistä erityisen hyödyllisiä melanogeneesiä ja sen säätelyä koskevissa tutkimuksissa. Lisäksi B16-solulinja on tärkeä väline rokotteen kehittämisessä ja immunoterapian kokeissa, sillä se tarjoaa tietoa kasvaimen ja immuunijärjestelmän vuorovaikutuksesta ja immunomoduloivien aineiden tehokkuudesta. Näiden solujen sopeutumiskyky erilaisiin in vivo ja in vitro -ympäristöihin korostaa niiden merkitystä melanooman hoitoon ja ehkäisyyn tähtäävässä translaatiotutkimuksessa ja prekliinisessä tutkimuksessa.

Organism

Hiiri

Tissue

Iho

Disease

Hiiren melanooma

Synonyms

B-16, B16 melanooma, B16-alalinja B78, B78, B78

Ominaisuudet**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Mies

Morphology

Sekoitus karanmuotoisia ja epiteelin kaltaisia soluja

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot**Citation**

B16 (Cytionin luettelonumero 305154)

Biosafety level

1

B16-solut | 305154**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_F936**Biomolekyylitiedot****Tumorigenic** Kyllä**Products** Melaniini**Käsittely****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

B16-solut | 305154

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

B16-solut | 305154

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.