

B16 šūnas | 305154**Vispārīga informācija****Description**

B16 šūnu līnija ir plaši izmantots peļu modelis, kas iegūts no C57BL/6 peļu melanomas audzējiem. Šī līnija tiek plaši izmantota pētniecībā, jo tā spēj veidot melanotiskus audzējus, kas pēc augšanas īpašībām un metastātiskā potenciāla ļoti līdzinās cilvēka melanomai. Šai šūnu līnijai ir dažādi apakštipi, piemēram, B16-F0, B16-F1 un B16-F10, un katram apakštipam ir atšķirīga metastātisku spēju pakāpe; piemēram, B16-F10 ir ļoti metastātiska salīdzinājumā ar B16-F0. Šīs variācijas ļauj pētniekiem izvēlēties piemērotu modeli, pamatojoties uz specifiskām prasībām, kas saistītas ar audzēju agresivitāti un metastāzēm.

B16 šūnas ir noderīgas, lai izprastu melanomas progresēšanas molekulāros un šūnu mehānismus un pārbaudītu pretvēža terapiju. To spēja ražot melanīnu padara tās īpaši noderīgas melanogēzes un tās regulācijas pētījumiem. Turklāt B16 šūnu līnija kalpo kā būtisks rīks vakcīnu izstrādē un imūnterapijas eksperimentos, sniedzot ieskatu audzēja un imūnsistēmas mijiedarbībā un imunomodulējošo līdzekļu efektivitātē. Šo šūnu spēja pielāgoties dažādām in vivo un in vitro vidēm uzsver to nozīmīgumu praktiskajos un pirmsklīniskajos pētījumos, kuru mērķis ir melanomas ārstēšana un profilakse.

Organism

Pele

Tissue

Āda

Disease

Peles melanoma

Synonyms

B-16, B16 melanoma, B16 apakšlīnija B78, B78

Raksturojums**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Vīrieši

Morphology

Vārpveida un epitēlijveidīgu šūnu maisījums

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati**Citation**

B16 (Cytion kataloga numurs 305154)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

B16 šūnas | 305154

CellosaurusAccession CVCL_F936

Biomolekulārie dati**Tumorigenic** Jā**Products** Melanīns**Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

B16 šūnas | 305154**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

B16 šūnas | 305154

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.