

**B16-F0 šūnas | 300308****Vispārīga informācija****Description**

B16-F0 šūnu līnija ir peļu melanomas šūnu līnija, kas iegūta no peļu melanomas B16. Šo šūnu līniju plaši izmanto vēža pētījumos, jo tai ir augsts metastatiskais potenciāls un spēja veidot audzējus, injicējot singlētiskām pelēm. B16-F0 šūnas ir īpaši noderīgas melanomas progresēšanas un metastāžu veidošanās molekulāro mehānismu izpētei, kā arī pretvēža zāļu un terapeitisko iejaukšanās pasākumu efektivitātes pārbaudei pirmsklīniskajos modeļos. B16-F0 šūnu līnija ir izejas šūnu līnija, no kuras, izmantojot selektīvas procedūras, kuru mērķis ir uzlabot specifiskas metastātiskas īpašības, ir iegūti citi varianti, piemēram, B16-F1, B16-F10 un B16-BL6.

B16-F0 šūnām ir tipiska epitēlija morfoloģija, un tās kultūrā aug adherenti. Ir zināms, ka tās ekspresē dažādus ar melanomu saistītus antigēnus, padarot tās par vērtīgu instrumentu imunoloģiskiem pētījumiem un melanomas vakcīnu izstrādei. Turklāt šīs šūnas bieži izmanto pētījumos, kas saistīti ar gēnu ekspresiju, signalizācijas ceļiem un audzēja mikrovidi. Pētnieki izmanto B16-F0 šūnas, lai pētītu melanomas šūnu un imūnsistēmas mijiedarbību, īpaši pievēršot uzmanību imūnās sistēmas apiešanas un nomākšanas mehānismiem. B16-F0 un tās atvasināto līniju raksturojums nodrošina visaptverošu sistēmu, lai izprastu melanomas invazīvās un metastātiskās īpašības, turklāt B16-F1, B16-F10 un B16-BL6 katra pārstāv pieaugošas metastātiskās un invazīvās aktivitātes stadijas, tādējādi kalpojot par svarīgiem modeļiem vēža progresēšanas un terapeitiskās atbildes reakcijas pētniecībā.

**Organism**

Pele

**Tissue**

Āda

**Disease**

Peles melanoma

**Synonyms**

B16/F0, B16F0

**Raksturojums****Breed/Subspecies**

C57BL/6

**Gender**

Vīrieši

**Morphology**

Vārpveida un epitēlijveidīgu šūnu maisījums

**Cell type**

Epitēlija

**Growth properties**

Adherent

**Normatīvie dati****Citation**

B16-F0 (Cytion kataloga numurs 300308)

**B16-F0 šūnas | 300308****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_0604**Biomolekulārie dati****Tumorigenic** Jā, singēniskām pelēm**Products** Melanīns**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt 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.**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 atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## B16-F0 šūnas | 300308

### 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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### 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-F0 šūnas | 300308

### 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.