

B16-F10 šūnas | 305157**Vispārīga informācija****Description**

B16-F10 šūnu līnija ir peļu B16 melanomas šūnu līnijas apakšlīnija, kas iegūta no spontāna peļu ādas audzēja. Šīm šūnām ir raksturīgs agresīvs metastāžu potenciāls, jo īpaši plaušās, tāpēc tās ir vērtīgs modelis melanomas progresēšanas un metastāžu izpētei. B16-F10 šūnām ir augsts melanīna saturs, kas veicina to pigmentāciju un tiek izmantots kā marķieris dažādos testos, lai izsekotu šūnu proliferāciju un audzēja augšanu. B16-F10 tika iegūta, izmantojot Fidlera metodi, desmit reizes veicot selekcijas procedūru, kas palielina tās metastātiskās spējas salīdzinājumā ar tās vecāko līniju B16-F0 un apakšlīniju B16-F1, kurai veica vienreizēju selekcijas procedūru.

B16-F10 šūnas plaši izmanto vēža pētījumos, jo tās spēj veidot audzējus singēniskām C57BL/6 pelēm, nodrošinot konsekventu un reproducējamu modeli pētījumiem in vivo. Šīs šūnas ekspresē dažādus ar melanomu saistītus antigēnus, kas ir ļoti svarīgi, lai pētītu imūnās atbildes reakcijas un izstrādātu imūnterapiju. Turklāt B16-F10 šūnas izmanto, lai novērtētu ķīmijterapeitisko līdzekļu efektivitāti un molekulāros mehānismus, kas nosaka melanomas rezistenci pret zālēm. Šūnu līnijas ģenētiskais profils un uzvedība dažādos eksperimentālos apstākļos sniedz ieskatu par melanomas metastāzēšanā iesaistītajiem ceļiem, palīdzot izstrādāt mērķtiecīgas terapeitiskās stratēģijas. Jāatzīmē, ka B16-F10 atvasinājums B16-BL6 uzrāda vēl lielāku invazīvo aktivitāti, padarot B16 līniju par visaptverošu modeļa sistēmu dažādu melanomas bioloģijas un terapijas aspektu izpētei.

Organism

Pele

Tissue

Āda

Disease

Peles melanoma

Synonyms

B16/F10, B16 F10, B16F10, B16 melanoma F10

Raksturojums**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Vīrieši

Morphology

Vārpveida un epitēlijevīdīgu šūnu maisījums

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati**Citation**

B16-F10 (Cytion kataloga numurs 305157)

B16-F10 šūnas | 305157

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0159

Biomolekulārie dati

Products	Melanīns
-----------------	----------

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , 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.
---------------------	--

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 atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

B16-F10 šūnas | 305157**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 pārnēsiet 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 šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

B16-F10 šūnas | 305157

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 un molekulārā analīze

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.