

Buňky B16 | 305154**Obecné informace****Description**

Buněčná linie B16 je široce používaný myší model odvozený z melanomových nádorů u myší C57BL/6. Tato linie je hojně využívána ve výzkumu díky své schopnosti vytvářet melanotické nádory, které se svými růstovými vlastnostmi a metastatickým potenciálem velmi podobají lidskému melanomu. Buněčná linie existuje v různých podtypech, jako jsou B16-F0, B16-F1 a B16-F10, přičemž každý podtyp vykazuje různý stupeň metastatické schopnosti; například B16-F10 je ve srovnání s B16-F0 vysoce metastatický. Tyto rozdíly umožňují výzkumným pracovníkům vybrat vhodný model na základě specifických požadavků jejich studií týkajících se agresivity nádorů a metastazování.

Buňky B16 jsou důležité pro pochopení molekulárních a buněčných mechanismů progresu melanomu a pro testování protinádorových terapií. Jejich schopnost produkovat melanin je zvláště užitečná pro studie melanogeneze a její regulace. Kromě toho slouží buněčná linie B16 jako základní nástroj pro vývoj vakcín a experimenty s imunoterapií a nabízí pohled na interakce mezi nádorem a imunitním systémem a účinnost imunomodulačních látek. Přizpůsobivost těchto buněk různým prostředím in vivo a in vitro podtrhuje jejich význam v translačním a preklinickém výzkumu zaměřeném na léčbu a prevenci melanomu.

Organism

Myš

Tissue

Kůže

Disease

Myší melanom

Synonyms

B-16, melanom B16, sublinie B16 B78, B78

Charakteristika**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Muži

Morphology

Směs vřetenovitých a epitelálních buněk

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

B16 (katalogové číslo Cytion 305154)

Biosafety level

1

Buňky B16 | 305154**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_F936**Biomolekulární data****Tumorigenic** Ano**Products** Melanin**Zpracování****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)**Supplements** Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:4 až 1:8**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky B16 | 305154

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky B16 | 305154

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.