

**Komórki B16 | 305154****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa B16 jest szeroko stosowanym mysim modelem pochodzącym z guzów czerniaka u myszy C57BL/6. Linia ta jest szeroko stosowana w badaniach ze względu na jej zdolność do tworzenia guzów melanocytynnych, które ściśle przypominają ludzkiego czerniaka pod względem charakterystyki wzrostu i potencjału przerzutowego. Linia komórkowa występuje w różnych podtypach, takich jak B16-F0, B16-F1 i B16-F10, przy czym każdy podtyp wykazuje różne stopnie zdolności do przerzutów; na przykład B16-F10 jest wysoce przerzutowy w porównaniu do B16-F0. Różnice te pozwalają badaczom wybrać odpowiedni model w oparciu o specyficzne wymagania ich badań dotyczących agresywności guza i przerzutów.

Komórki B16 odgrywają kluczową rolę w zrozumieniu molekularnych i komórkowych mechanizmów progresji czerniaka i testowaniu terapii przeciwnowotworowych. Ich zdolność do produkcji melaniny czyni je szczególnie przydatnymi w badaniach nad melanogenezą i jej regulacją. Ponadto linia komórkowa B16 służy jako podstawowe narzędzie do opracowywania szczepionek i eksperymentów immunoterapeutycznych, oferując wgląd w interakcje między nowotworem a układem odpornościowym oraz skuteczność środków immunomodulujących. Zdolność adaptacji tych komórek do różnych środowisk in vivo i in vitro podkreśla ich znaczenie w badaniach translacyjnych i przedklinicznych mających na celu leczenie i zapobieganie czerniakowi.

**Organism**

Mysz

**Tissue**

Skóra

**Disease**

Czerniak myszy

**Synonyms**

B-16, czerniak B16, podlinia B16 B78, B78

**Charakterystyka****Breed/Subspecies**

C57BL/6

**Gender**

Męczyzna

**Morphology**

Mieszanka komórek wrzecionowatych i nabłonkowych

**Growth properties**

Adherent

**Dane regulacyjne****Citation**

B16 (numer katalogowy Cytion 305154)

**Biosafety level**

1

**Komórki B16 | 305154****NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_F936**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak**Products** Melanina**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:4 do 1:8**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki B16 | 305154

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki B16 | 305154

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.