

Komórki B16-F10 | 305157**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa B16-F10 jest podlinią mysiej linii komórkowej czerniaka B16, pochodzącej ze spontanicznego guza skóry u myszy. Komórki te charakteryzują się agresywnym potencjałem przerzutowym, szczególnie do płuc, co czyni je cennym modelem do badania progresji czerniaka i przerzutów. Komórki B16-F10 wykazują wysoką zawartość melaniny, która przyczynia się do ich pigmentacji i jest wykorzystywana jako marker w różnych testach do śledzenia proliferacji komórek i wzrostu guza. Komórki B16-F10 uzyskano poprzez dziesięciokrotną selektywną procedurę z wykorzystaniem metody Fidlera, zwiększając ich zdolność do tworzenia przerzutów w porównaniu z linią macierzystą B16-F0 i podlinią B16-F1, które poddano jednokrotnej selektywnej procedurze.

Komórki B16-F10 są szeroko stosowane w badaniach nad rakiem ze względu na ich zdolność do tworzenia guzów u syngenicznych myszy C57BL/6, zapewniając spójny i powtarzalny model do badań in vivo. Komórki te wyrażają różne antygeny związane z czerniakiem, które mają kluczowe znaczenie dla badania odpowiedzi immunologicznej i opracowywania immunoterapii. Ponadto komórki B16-F10 są wykorzystywane do oceny skuteczności środków chemioterapeutycznych i mechanizmów molekularnych leżących u podstaw oporności czerniaka na leki. Profil genetyczny i zachowanie linii komórkowej w różnych warunkach eksperymentalnych zapewniają wgląd w szlaki zaangażowane w przerzuty czerniaka, pomagając w opracowaniu ukierunkowanych strategii terapeutycznych. Warto zauważyć, że pochodna B16-F10, B16-BL6, wykazuje jeszcze większą aktywność inwazyjną, co czyni serię B16 wszechstronnym systemem modelowym do badania różnych aspektów biologii i terapii czerniaka.

Organism

Mysz

Tissue

Skóra

Disease

Czerniak myszy

Synonyms

B16/F10, B16 F10, B16F10, czerniak B16 F10

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Męczyzna

Morphology

Mieszanka komórek wrzecionowatych i nabłonkowych

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki B16-F10 | 305157**Citation** B16-F10 (numer katalogowy Cytion 305157)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0159**Dane biomolekularne****Products** Melanina**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**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-F10 | 305157

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°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°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°C , 5% 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°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B16-F10 | 305157

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°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 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °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.