

Células B16 | 305154**Informações gerais****Description**

A linha celular B16 é um modelo murino amplamente utilizado, derivado de tumores de melanoma em ratinhos C57BL/6. Esta linha é amplamente utilizada na investigação devido à sua capacidade de formar tumores melanóticos que se assemelham muito ao melanoma humano em termos de características de crescimento e potencial metastático. A linha celular existe em vários subtipos, tais como B16-F0, B16-F1 e B16-F10, com cada subtipo a demonstrar diferentes graus de capacidade metastática; por exemplo, a B16-F10 é altamente metastática em comparação com a B16-F0. Estas variações permitem aos investigadores selecionar um modelo adequado com base nos requisitos específicos dos seus estudos relativos à agressividade tumoral e à metástase.

As células B16 são fundamentais para compreender os mecanismos moleculares e celulares da progressão do melanoma e para testar terapias anti-cancro. A sua capacidade de produção de melanina torna-as particularmente úteis para estudos sobre a melanogénese e a sua regulação. Além disso, a linha de células B16 é uma ferramenta essencial para o desenvolvimento de vacinas e experiências de imunoterapia, oferecendo conhecimentos sobre as interações tumor-sistema imunitário e a eficácia dos agentes imunomoduladores. A adaptabilidade destas células a vários ambientes in vivo e in vitro sublinha a sua importância na investigação translacional e pré-clínica destinada ao tratamento e prevenção do melanoma.

Organism Rato**Tissue** Pele**Disease** Melanoma do ratinho**Synonyms** B-16, melanoma B16, B16 sub-linhagem B78, B78**Caraterísticas****Breed/Subspecies** C57BL/6**Gender** Masculino**Morphology** Mistura de células fusiformes e epiteliais**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** B16 (número de catálogo Cytion 305154)

Células B16 | 305154**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_F936**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim**Products** Melanina**Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:4 a 1:8**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células B16 | 305154

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células B16 | 305154

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.