

Células B16-F10 | 305157**Informações gerais****Description**

A linha de células B16-F10 é uma sub-linha da linha de células de melanoma murino B16, derivada de um tumor cutâneo espontâneo num rato. Estas células são caracterizadas pelo seu potencial metastático agressivo, particularmente para os pulmões, o que as torna um modelo valioso para o estudo da progressão e metástase do melanoma. As células B16-F10 exibem um elevado teor de melanina, o que contribui para a sua pigmentação e é utilizado como marcador em vários ensaios para acompanhar a proliferação celular e o crescimento do tumor. A linhagem B16-F10 foi obtida através de um procedimento seletivo de dez vezes utilizando o método de Fidler, aumentando a sua capacidade metastática em comparação com a sua linhagem parental, B16-F0, e a sub-linhagem B16-F1, que foi submetida a um procedimento seletivo de uma só vez.

As células B16-F10 são amplamente utilizadas na investigação do cancro devido à sua capacidade de formar tumores em ratinhos C57BL/6 singénicos, proporcionando um modelo consistente e reprodutível para estudos in vivo. Estas células expressam vários antígenos associados ao melanoma, que são cruciais para investigar as respostas imunitárias e desenvolver imunoterapias. Além disso, as células B16-F10 são utilizadas para avaliar a eficácia dos agentes quimioterapêuticos e os mecanismos moleculares subjacentes à resistência aos medicamentos no melanoma. O perfil genético e o comportamento da linhagem celular em diferentes condições experimentais permitem conhecer as vias envolvidas na metástase do melanoma, auxiliando no desenvolvimento de estratégias terapêuticas específicas. É de salientar que a derivada da B16-F10, a B16-BL6, apresenta uma atividade invasiva ainda maior, tornando a série B16 um sistema modelo abrangente para o estudo de diferentes aspectos da biologia e da terapia do melanoma.

Organism

Rato

Tissue

Pele

Disease

Melanoma do ratinho

Synonyms

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

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

C57BL/6

Gender

Masculino

Morphology

Mistura de células fusiformes e epiteliais

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células B16-F10 | 305157**Citation** B16-F10 (número de catálogo Cytion 305157)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_0159**Dados biomoleculares****Products** Melanina**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**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** 1:2 a 1:4**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-F10 | 305157**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-F10 | 305157

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 e Análise Molecular

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.