

Buňky FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**Obecné informace****Description**

Buněčná linie FO-1, známá také jako MEL-CLS-1, je linie lidského amelanotického melanomu odvozená z metastatického ložiska, konkrétně z ilické lymfatické uzliny kavkazského pacienta. Tato buněčná linie byla vytvořena z xenotransplantátu, což dále zajišťuje její užitečnost ve výzkumu zaměřeném na metastatický melanom. Amelanotický melanom, z něhož FO-1 pochází, je charakterizován absencí melaninového pigmentu, což z něj činí zvláště cenný materiál pro studium podtypů melanomu, které postrádají typickou pigmentaci spojenou s těmito nádory.

Buněčná linie FO-1 vykazuje dobu zdvojení přibližně 38 hodin, což se projevuje zejména při 49. pasáži. Díky této relativně rychlé rychlosti růstu je vhodná pro experimenty vyžadující rychlou buněčnou proliferaci. Buňky FO-1 jsou známé svou diferencovanou citlivostí na různé léčebné postupy, včetně citlivosti na diferenciací a antiproliferační účinky interferonu beta (IFN- β) a 12-O-tetradekanoyl-forbol-13-acetátu (TPA), což z nich činí kritický model pro studium modulaace antigenů spojených s melanomem a exprese HLA antigenů za různých experimentálních podmínek.

Organism

Člověk

Tissue

Kůže

Disease

Amelanotický melanom

Metastatic site

Ilická lymfatická uzlina

Synonyms

FO-1, FO #1, FO 1, MEL-CLS-1

Charakteristika**Age**

54 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

FO-1 (MEL-CLS-1) (katalogové číslo Cytion 300175)

Biosafety level

1

Buňky FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5619

Biomolekulární data

Protein expression P53(+)

Tumorigenic Ano, u nahých myší

Viruses Negativní pro: M.pulmonis, MVM, Theiler's GD VII, Toolan's H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovirus, B.piliformis.

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Modální číslo 51, rozsah 38-56

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. 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 Doporučuje se poměr 1:4

Seeding density 1×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal Každé 3 dny

Buňky FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

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 kryo.

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 odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího 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 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Buňky FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**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.

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.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 12
D16S539: 9,12
D5S818: 12,13
D7S820: 9,11
TH01: 9
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 15,18
D21S11: 27
D18S51: 17
Penta E: 14,17
Penta D: 9
D8S1179: 12,14
FGA: 19,23
PEZ6: CLS-439