

FO-1 (MEL-CLS-1) rakud | 300175

Üldine teave

Description

FO-1 rakuliin, tuntud ka kui MEL-CLS-1, on inimese amelanootilise melanoomi liin, mis on saadud metastaatilise asukohast, täpsemalt kaukaasia patsiendi lümfisõlmest. See rakuliin on loodud ksenotransplantaadist, mis tagab selle kasulikkuse metastaatilise melanoomi uurimisel. Amelanootilist melanoomi, millest FO-1 pärineb, iseloomustab melaniinipigmenti puudumine, mis muudab selle eriti väärtuslikuks selliste melanoomi alatüüpide uurimiseks, millel puudub nende kasvajatega seotud tüüpiline pigmentatsioon.

FO-1 rakuliinil on kahekordistumisaeg ligikaudu 38 tundi, mis on eriti märgatav 49. läbimisel. See suhteliselt kiire kasvukiirus muudab selle sobivaks katsete jaoks, mis nõuavad rakkude kiiret paljunemist. FO-1 rakud on tuntud oma erineva tundlikkuse poolest erinevate ravimeetodite suhtes, sealhulgas nende tundlikkus interferoon-beta (IFN- β) ja 12-O-tetradekanoül-phorbol-13-atsetaadi (TPA) diferentseeriva ja antiproliferatiivse toime suhtes, mis teeb neist kriitilise mudeli melanoomiga seotud antigeenide ja HLA antigeenide ekspressiooni muutmise uurimiseks erinevates katsetingimustes.

Organism Inimene

Tissue Nahk

Disease Amelanootiline melanoom

Metastatic site Lümfisõlmede lümfisõlmede

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

Omadused

Age 54 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation FO-1 (MEL-CLS-1) (Cytioni katalooginumber 300175)

Biosafety level 1

FO-1 (MEL-CLS-1) rakud | 300175

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5619

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression P53(+)

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel

Viruses Negatiivne: M.pulmonis, MVM, Theileri GD VII, Toolani H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenoviirus, B.piliformis.

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Modaalne number 51, vahemik 38-56

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 3 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

FO-1 (MEL-CLS-1) rakud | 300175**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

FO-1 (MEL-CLS-1) rakud | 300175

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.