

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

Általános információk

Description

A FO-1 sejtvonal, más néven MEL-CLS-1, egy emberi amelanotikus melanoma vonal, amely egy metasztatikus helyről, konkrétan egy kaukázusi beteg csípőnyirokcsomójából származik. Ezt a sejtvonalat xenograftból hozták létre, ami tovább biztosítja hasznosságát az áttétes melanomára összpontosító kutatásokban. Az amelanotikus melanómát, amelyből a FO-1 származik, a melanin pigment hiánya jellemzi, így különösen értékes az olyan melanoma altípusok tanulmányozására, amelyekből hiányzik az ezekre a daganatokra jellemző pigmentáció.

A FO-1 sejtvonal körülbelül 38 órás megduplázódási időt mutat, ami különösen a 49. passzáznál figyelhető meg. Ez a viszonylag gyors növekedési sebesség alkalmassá teszi a gyors sejtproliferációt igénylő kísérletekhez. A FO-1 sejtek ismertek a különböző kezelésekre való differenciált érzékenysükről, beleértve az interferon-béta (IFN- β) és a 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetát (TPA) differenciáló és antiproliferatív hatásaira való érzékenységüket, ami kritikus modellt teszi őket a melanomával kapcsolatos antigének és a HLA antigének expressziójának különböző kísérleti körülmények közötti modulációjának tanulmányozására.

Organism

Emberi

Tissue

Bőr

Disease

Amelanotikus melanoma

Metastatic site

Nyirokcsomó

Synonyms

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

Jellemzők

Age

54 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

FO-1 (MEL-CLS-1) (Cytion katalógusszám: 300175)

Biosafety level

1

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

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5619

Biomolekuláris adatok

Protein expression P53(+)

Tumorigenic Igen, meztelen egerekben

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

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype 51-es modális szám, 38-56-os tartomány

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadéokban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal 3 naponta

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

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

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

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

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.