

Komórki FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa FO-1, znana również jako MEL-CLS-1, to ludzka linia czerniaka amelanotycznego pochodząca z miejsca przerzutu, w szczególności z biodrowego węzła chłonnego pacjenta rasy kaukaskiej. Ta linia komórkowa została utworzona z ksenoprzeszczepu, co dodatkowo zapewnia jej użyteczność w badaniach nad czerniakiem z przerzutami. Czerniak amelanotyczny, z którego pochodzi FO-1, charakteryzuje się brakiem pigmentu melaniny, co czyni go szczególnie cennym do badania podtypów czerniaka, które nie mają typowej pigmentacji związanej z tymi nowotworami.

Linia komórkowa FO-1 wykazuje czas podwojenia wynoszący około 38 godzin, szczególnie zauważalny przy 49. pasażowaniu. To stosunkowo szybkie tempo wzrostu sprawia, że nadaje się ona do eksperymentów wymagających szybkiej proliferacji komórek. Komórki FO-1 są znane ze swojej zróżnicowanej wrażliwości na różne terapie, w tym na różnicujące i antyproliferacyjne działanie interferonu-beta (IFN- β) i 12-O-tetradekanoilo-forbol-13-octanu (TPA), co czyni je krytycznym modelem do badania modulacji antygenów związanych z czerniakiem i ekspresji antygenów HLA w różnych warunkach eksperymentalnych.

Organism Człowiek**Tissue** Skóra**Disease** Czerniak amelanotyczny**Metastatic site** Węzeł chłonny biodrowy**Synonyms** FO-1, FO #1, FO 1, MEL-CLS-1**Charakterystyka****Age** 54 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** FO-1 (MEL-CLS-1) (numer katalogowy Cytion 300175)**Biosafety level** 1

Komórki FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5619**Dane biomolekularne****Protein expression** P53(+)**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Viruses** Negatywne dla: Sendai, Ectromelia, Polyoma, K-Virus, Kilham, Reo 3, PVM, LCM, M.pulmonis, MVM, Theiler's GD VII, Toolan's H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovirus, B.piliformis.**Mutational profile** BRAF V600Emut**Karyotype** Numer modalny 51, zakres 38-56**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:4**Seeding density** 1×10^4 kom^{órek}/cm²**Fluid renewal** Co 3 dni

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

Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**Freezing Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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