

**Células FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175****Informações gerais****Description**

A linha celular FO-1, também conhecida como MEL-CLS-1, é uma linha de melanoma amelanótico humano derivada de um local metastático, especificamente o nódulo linfático ilíaco de um doente caucasiano. Esta linha celular foi estabelecida a partir de um xenoinxerto, assegurando ainda mais a sua utilidade na investigação centrada no melanoma metastático. O melanoma amelanótico, do qual a FO-1 é originária, é caracterizado pela ausência de pigmento de melanina, o que a torna particularmente valiosa para o estudo de subtipos de melanoma que não possuem a pigmentação típica associada a estes tumores.

A linha celular FO-1 apresenta um tempo de duplicação de aproximadamente 38 horas, particularmente notado na 49ª passagem. Esta taxa de crescimento relativamente rápida torna-a adequada para experiências que requerem uma rápida proliferação celular. As células FO-1 são conhecidas pela sua sensibilidade diferencial a vários tratamentos, incluindo a sua capacidade de resposta aos efeitos diferenciadores e antiproliferativos do interferão-beta (IFN- $\beta$ ) e do 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA), o que as torna um modelo essencial para o estudo da modulação dos antigénios associados ao melanoma e da expressão dos antigénios HLA em várias condições experimentais.

**Organism** Humano**Tissue** Pele**Disease** Melanoma amelanótico**Metastatic site** Nódulo linfático ilíaco**Synonyms** FO-1, FO #1, FO 1, MEL-CLS-1**Caraterísticas****Age** 54 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** FO-1 (MEL-CLS-1) (número de catálogo Cytion 300175)

**Células FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_5619**Dados biomoleculares****Protein expression** P53(+)**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Viruses** Negativo para: 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** Número modal 51, intervalo 38-56**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, 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.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** A cada 3 dias

## Células FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175

### Post-Thaw Recovery

Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

### 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.

### 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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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 x 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<sub>2</sub>, atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175

### 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.

### 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 / Perfil genético / HLA

### 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 inspeções visuais diárias.