

**Bunky FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia FO-1, známa aj ako MEL-CLS-1, je ľudská línia amelanotického melanómu získaná z metastatického ložiska, konkrétne z iliackej lymfatickej uzliny pacienta kaukazskej rasy. Táto bunková línia bola vytvorená z xenotransplantátu, čo ďalej zabezpečuje jej využiteľnosť vo výskume zameranom na metastatický melanóm. Amelanotický melanóm, z ktorého FO-1 pochádza, sa vyznačuje neprítomnosťou melanínového pigmentu, vďaka čomu je mimoriadne cenný na štúdium podtypov melanómu, ktoré nemajú typickú pigmentáciu spojenú s týmito nádormi.

Bunková línia FO-1 vykazuje zdvojovací čas približne 38 hodín, čo sa prejavuje najmä pri 49. pasáži. Táto relatívne rýchla rýchlosť rastu ju robí vhodnou na experimenty vyžadujúce rýchlu proliferáciu buniek. Bunky FO-1 sú známe svojou diferencovanou citlivosťou na rôzne liečebné postupy vrátane ich reakcie na diferenciačné a antiproliferačné účinky interferónu beta (IFN- $\beta$ ) a 12-O-tetradekanoyl-forbol-13-acetátu (TPA), čo z nich robí kritický model na štúdium modulácie antigénov spojených s melanómom a expresie antigénu HLA za rôznych experimentálnych podmienok.

**Organism**

Ľudské

**Tissue**

Koža

**Disease**

Amelanotický melanóm

**Metastatic site**

Iliacké lymfatické uzliny

**Synonyms**

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

**Charakteristika****Age**

54 rokov

**Gender**

Ženy

**Ethnicity**

Kaukazský

**Growth properties**

Adherent

**Regulačné údaje****Citation**

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

**Biosafety level**

1

**Bunky FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_5619

**Biomolekulárne údaje**

Protein expression P53(+)

Tumorigenic Áno, na nahých myšiach

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

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Modálne číslo 51, rozsah 38-56

**Spracovanie**Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density  $1 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>

Fluid renewal Každé 3 dni

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii  $5 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

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

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.