

Celice FO-1 (MEL-CLS-1) | 300175**Splošne informacije****Description**

Celična linija FO-1, znana tudi kot MEL-CLS-1, je linija človeškega amelanotskega melanoma, pridobljena iz metastatskega žarišča, zlasti iliakalnega bezgavke kavkaškega bolnika. Ta celična linija je bila pridobljena iz ksenografta, kar še dodatno zagotavlja njeno uporabnost v raziskavah metastatskega melanoma. Za amelanotični melanom, iz katerega izhaja FO-1, je značilno, da nima pigmenta melanina, zato je še posebej dragocen za preučevanje podtipov melanoma, ki nimajo značilne pigmentacije, povezane s temi tumorji.

Pri celični liniji FO-1 je podvojitveni čas približno 38 ur, kar je še posebej opazno pri 49. prehodu. Zaradi relativno hitre rasti je primerna za poskuse, ki zahtevajo hitro razmnoževanje celic. Celice FO-1 so znane po svoji različni občutljivosti na različna zdravljenja, vključno z odzivnostjo na diferenciacijske in antiproliferacijske učinke interferona beta (IFN- β) in 12-O-tetradekanoil-forbol-13-acetata (TPA), zato so ključni model za preučevanje modulacije z melanomom povezanih antigenov in izražanja antigenov HLA pod različnimi eksperimentalnimi pogoji.

Organism

Človek

Tissue

Koža

Disease

Amelanotični melanom

Metastatic site

Iliakalna bezgavka

Synonyms

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

Značilnosti**Age**

54 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki**Citation**

FO-1 (MEL-CLS-1) (katalogska številka Cytion 300175)

Biosafety level

1

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

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5619

Biomolekularni podatki

Protein expression P53(+)

Tumorigenic Da, na golih miših

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

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Modalna številka 51, razpon 38-56

Ravnanje s spletno stranjoCulture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekritje z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal Vsakih 3 dni

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

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

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

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

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.