

MEL-CLS-4-Zellen | 300128

Allgemeine Informationen

Description	Diese Zelllinie wurde 1998 von CLS als In-vitro-Zelllinie aus dem menschlichen Melanom-Xenotransplantat BOW-G entwickelt.
Organism	Menschen
Tissue	Haut
Disease	Melanosarkom

Merkmale

Age	Nicht spezifiziert
Gender	Männlich
Ethnicity	Kaukasisch
Growth properties	Adhärent

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation	MEL-CLS-4 (Cytion-Katalognummer 300128)
Biosafety level	1

Expression / Mutation

Tumorigenic	Ja, in Nacktmäusen
Viruses	Negativ für: Sendai, Ektromelia, 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	Die BRAF-Mutation vom Typ V600E wurde durch DNA-basierte Methoden (Sequenzierung, RT-PCR) und proteinbasierte Methoden (Western Blot) bestimmt

Handhabung

MEL-CLS-4-Zellen | 300128

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 1,5 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Medium supplements Supplemente des Mediums mit 10% FBS

Passaging solution Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:4

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal Alle 3 Tage

Freezing recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit 5×10^4 Zellen/cm² plattieren und die Zellen mindestens 48 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen.

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

MEL-CLS-4-Zellen | 300128

Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle nachfolgenden Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Sie können die Zentrifugation auch überspringen, aber das restliche Gefriermedium nach 24 Stunden entfernen.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

MEL-CLS-4-Zellen | 300128

STR profile

CSF1PO: 11,12
D13S317: 12
D16S539: 13
D5S818: 13
D7S820: 10,11
TH01: 6,9
TPOX: 8,11
vWA: 17,18
D3S1358: 15,18
D21S11: 30
D18S51: 11,14
Penta E: 7,19
Penta D: 13
D8S1179: 13,16
FGA: 19,23