

## MEL-CLS-4 sejtek | 300128

## Általános információk

|                    |  |
|--------------------|--|
| <b>Description</b> | Ezt a sejtvonalat a CLS 1998-ban hozta létre in vitro sejtvonalként a BOW-G humán melanoma xenograftból. |
| <b>Organism</b>    | Emberi   |
| <b>Tissue</b>      | Bőr  |
| <b>Disease</b>     | Melanoszarkóma   |

## Jellemzők

|                          |                 |
|--------------------------|-----------------|
| <b>Age</b>               | Meghatározatlan |
| <b>Gender</b>            | Férfi           |
| <b>Ethnicity</b>         | Kaukázusi       |
| <b>Growth properties</b> | Adherent        |

## Szabályozási adatok

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Citation</b>             | MEL-CLS-4 (Cytion katalógusszám: 300128) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1  |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                     |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_6003                                |

## Biomolekuláris adatok

|                           |   |
|---------------------------|---|
| <b>Tumorigenic</b>        | Igen, meztelen egerekben  |
| <b>Viruses</b>            | Negatív: M.pulmonis, MVM, Theiler's GD VII, Toolan's H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovírus, B.piliformis.                              |
| <b>Mutational profile</b> | A V600E típusú BRAF mutációt DNS alapú módszerekkel (szekvenálás, RT-PCR) és fehérje alapú módszerekkel (Western Blot) határozták meg |

## MEL-CLS-4 sejtek | 300128

## A kezelése

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Culture Medium</b>       | DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)  |
| <b>Supplements</b>          | A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel  |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase  |
| <b>Subculturing</b>         | Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak. |
| <b>Seeding density</b>      | $1 \times 10^4$ sejt/cm <sup>2</sup>  |
| <b>Fluid renewal</b>        | 3 naponta   |
| <b>Post-Thaw Recovery</b>   | Felolvasztás után helyezze a sejteket $5 \times 10^4$ sejt/cm <sup>2</sup> sűrűséggel a lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felépüljenek a fagyasztási folyamatból, és legalább 48 órán át tapadjanak.  |
| <b>Freeze medium</b>        | Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.  |

## MEL-CLS-4 sejtek | 300128

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párásított légkör.

### Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## MEL-CLS-4 sejtek | 300128

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150\text{ °C}$  és  $-196\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ °C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.