

## MEL-CLS-3-celler | 300293

## Generell informasjon

|                    |   |
|--------------------|---|
| <b>Description</b> | Denne cellelinjen ble etablert som in vitro-cellelinje fra det humane melanom-xenograftet MRI-H-221 fra et primært malignt melanom av CLS i 1998. |
| <b>Organism</b>    | Menneskelig   |
| <b>Tissue</b>      | Hud   |
| <b>Disease</b>     | Amelanotisk melanom   |
| <b>Synonyms</b>    | MRI-H-221   |

## Kjennetegn

|                          |              |
|--------------------------|--------------|
| <b>Age</b>               | Uspesifisert |
| <b>Gender</b>            | Mann         |
| <b>Ethnicity</b>         | Kaukasisk    |
| <b>Growth properties</b> | Vedhengende  |

## Regulatoriske data

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Citation</b>             | MEL-CLS-3 (Cytion-katalognummer 300293) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1                                       |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                    |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_6002                               |

## Biomolekylære data

|                           |                 |
|---------------------------|-----------------|
| <b>Protein expression</b> | P53(+)          |
| <b>Tumorigenic</b>        | Ja, i nakne mus |

**MEL-CLS-3-celler | 300293**

**Viruses** Negativ for: Sendai, Ektromelie, 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** V600E-type BRAF-mutasjon ble bestemt ved hjelp av DNA-baserte metoder (sekvensering, RT-PCR) og proteinbaserte metoder (Western Blot)

**Håndtering**

**Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales

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

**Fluid renewal** Hver tredje dag

**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 48 timer.

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

## MEL-CLS-3-celler | 300293

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**MEL-CLS-3-celler | 300293**

**Storage  
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**

**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

**STR-profil**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 10,11  
**D13S317:** 11,13  
**D16S539:** 10,13  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 7,10  
**TH01:** 9,3  
**TPOX:** 8  
**vWA:** 17,18  
**D3S1358:** 16,18  
**D21S11:** 28,31.2  
**D18S51:** 16,17  
**Penta E:** 14  
**Penta D:** 12,13  
**D8S1179:** 12,13  
**FGA:** 21,25  
**PEZ6:** Namalwa