

## Komórki MEL-CLS-2 | 300283

## Informacje ogólne

<b>Description</b>	Ta linia komórkowa została utworzona jako linia komórkowa in vitro z ksenoprzeszczepu czerniaka pierwotnego przez CLS w 1998 roku.
<b>Organism</b>	Człowiek
<b>Tissue</b>	Ludzki przeszczep ksenogeniczny
<b>Disease</b>	Czerniak

## Charakterystyka

<b>Age</b>	Nieokreślony
<b>Gender</b>	Męczyzna
<b>Ethnicity</b>	Kaukaski
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Dane regulacyjne

<b>Citation</b>	MEL-CLS-2 (numer katalogowy Cytion 300283)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_6001

## Dane biomolekularne

<b>Protein expression</b>	P53(+)
<b>Tumorigenic</b>	Tak, u nagich myszy
<b>Mutational profile</b>	BRAF V600Emut

**Komórki MEL-CLS-2 | 300283****Karyotype** Numer modalny 51, zakres 38-56**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4**Seeding density** 1 do  $2 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Co 3 dni**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki MEL-CLS-2 | 300283****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki MEL-CLS-2 | 300283****Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 9,10  
**D16S539:** 11  
**D5S818:** 9,11  
**D7S820:** 7,10  
**TH01:** 9,9,3  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 15,17  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 29,30  
**D18S51:** 12,17  
**Penta E:** 7,11  
**Penta D:** 9,13  
**D8S1179:** 15  
**FGA:** 23

**Allele HLA**

**A\*:** '02:06:01, '68:02:01  
**B\*:** '39:01:01, '53:01:01  
**C\*:** '03:04:01, '04:01:01  
**DRB1\*:** '03:01:01, '04:01:01  
**DQA1\*:** '03:03:01, '05:01:01  
**DQB1\*:** '02:01:01, '03:01:01  
**DPB1\*:** '02:01:02, '04:01:01  
**E:** '01:01, '01:03