Product sheet

Celule MEL-CLS-2 | 300283

Informații generale

Description	Această linie celulară a fost stabilită ca linie celulară in vitro din xenograftul de melanom al unui melanom primar de către CLS în 1998.
Organism	Om
Tissue	Xenograft uman
Disease	Melanom

Caracteristici

Age	Nespecificat
Gender	Masculin
Ethnicity	Caucazian
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	MEL-CLS-2 (număr de catalog Cytion 300283)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6001

Date biomoleculare

Protein expression	P53(+)
Tumorigenic	Da, la șoareci nude
Mutational profile	BRAF V600Emut

Celule MEL-CLS-2 | 300283

Karyotype	Numărul modal 51, intervalul 38-56

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentaţi mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtaţi mediul vechi de pe celulele aderente şi spălaţi-le cu PBS care nu conţine calciu şi magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 şi 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsaţi celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detaşa. După incubare, amestecaţi uşor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugaţi la 300xg timp de 3 minute. Aruncaţi supernatantul, resuspendaţi celulele în mediu proaspăt şi transferaţi-le în flacoane noi care conţin deja mediu proaspăt.
Seeding density	1 până la 2 x 10^4 cel^{ule}/cm^2
Fluid renewal	La fiecare 3 zile
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creştere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanţi optimizaţi şi stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea şi a reduce stresul indus de criogenie.

Celule MEL-CLS-2 | 300283

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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