

## MEL-CLS-3-celler | 300293

## Allmän information

<b>Description</b>	Denna cellinje etablerades som en in vitro-cellinje från xenograft MRI-H-221 av ett primärt malignt melanom hos människa av CLS 1998.
<b>Organism</b>	Människan
<b>Tissue</b>	Hud
<b>Disease</b>	Amelanotiskt melanom
<b>Synonyms</b>	MRI-H-221

## Egenskaper

<b>Age</b>	Ospecificerad
<b>Gender</b>	Man
<b>Ethnicity</b>	Kaukasisk
<b>Growth properties</b>	Följsam

## Lagstadgade uppgifter

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

## Biomolekylära data

<b>Protein expression</b>	P53(+)
<b>Tumorigenic</b>	Ja, i nakna möss

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

**Viruses** Negativ för: 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** BRAF-mutation av V600E-typ bestämdes med DNA-baserade metoder (sekvensering, RT-PCR) och proteinbaserade metoder (Western Blot)

**Hantering**

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

**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

**Split ratio** Ett förhållande på 1:2 till 1:4 rekommenderas

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

**Fluid renewal** Var 3:e dag

**Post-Thaw Recovery** Efter upptining, plattlägg cellerna med  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 48 timmar.

**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## MEL-CLS-3-celler | 300293

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

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

**Shipping  
Conditions**

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

**Storage  
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

**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