Product sheet

Клетки SK-MEL-5 | 300157

Обща информация

Description	Това е една от много обширните серии меланомни линии, изолирани от Т. Такахаши и неговите сътрудници. Линиите са послужили като източник на прицелни клетки за откриване на специфични за меланома антитела при пациенти с това заболяване.
Organism	Човек
Tissue	Кожа
Disease	Меланома
Metastatic site	Аксиларен лимфен възел
Applications	Изследвания върху меланома; биология на кожния рак; чувствителност на меланомата към лекарства; оценка на инхибиторите на контролните точки; изследвания на MAPK/ERK пътя; клетъчна миграция и инвазия; модели с ксенографти; тестове за цитотоксичност на NK-клетки и Т-клетки (целеви клетки)
Synonyms	SK-Mel-5, SK MEL 5, SK.MEL.5, SK-MEL5, SKMel-5, SKMEL-5, SKMEL5, SKMel5, SKmel5, AA-Mel

Характеристики

Age	24 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Звездовидните
Cell type	Меланоцити/меланомни клетки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	SK-MEL-5 (каталожен номер 300157 на Cytion)
Biosafety level	1

Клетки SK-MEL-5 | 300157

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0527
GMO Status	Без генетична модификация; клетъчна линия от меланом от див тип, изолирана от Т. Такахаши и др.

Биомолекулярни данни

Protein expression	P53 положителен
Isoenzymes	PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Фенотип Честота на продукта: 0.0860
Tumorigenic	Да, при голи мишки образува малигнен меланом
Products	Меланин

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	приблизително 24 до 36 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	1×10^4 клетки/cm^2

Клетки SK-MEL-5 | 300157

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетки SK-MEL-5 | 300157

Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
Профил на STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10,13 **D13S317**: 10,12 **D16S539**: 10,12 **D5S818**: 11,13 **D7S820**: 9,12 **TH01**: 6,9 **TPOX**: 11 **vWA**: 14,18 **D3S1358**: 16,17 **D21S11**: 29 **D18S51**: 15,16 **Penta E**: 5,12 **Penta D**: 9,11 **D8S1179**: 12:15 **FGA**: 20.2,22

Клетки SK-MEL-5 | 300157

HLA алели	**A***: '02:01:01, '11:01:01 **B***: '07:02:01, '40:01:02 **C***: '03:04:01, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '13:01:01 **DQA1***: '01:03:01, '03:01:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:03:01 **DPB1***: '03:01:01, '16:01:01 **E**: '01:01, '01:03