

Клетки SK-MEL-2 | 300423

Обща информация

Description	Представяме ви SK-MEL-2 клетки - клетъчна линия, получена от 60-годишен бял мъж, пациент с малигнен меланом. Тези клетки експресират див тип B-Raf и мутирал N-Ras (Q61R). С време на удвояване от 32 часа, клетките SK-MEL-2 предоставят ценен инструмент за изследване на меланома. Меланомът възниква, когато в меланоцитите се появят мутации, които водят до неконтролирано размножаване и развитие на рак. С помощта на клетките SK-MEL-2 изследователите могат да получат представа за механизмите на меланома и да проучат потенциални лечения.
Organism	Човек
Tissue	Кожа
Disease	Меланома
Metastatic site	Кожа на бедрото
Synonyms	SK-Mel-2, SK-Mel 2, SK-mel-2, SK-MEL2, SK.MEL.2, SK Mel 2, SK MEL 2, SKMEL-2, SKMEL2, SKmel2, SK-ML2, SKml2

Характеристики

Age	60 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Многоъгълни
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	SK-MEL-2 (каталожен номер 300423 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Клетки SK-MEL-2 | 300423

CellosaurusAccession CVCL_0069

Биомолекулярни данни

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Да, при голи мишки. Образува малигнен меланом**Products** Меланин**Karyotype** (P6) хиподиплоиден до хипертраплоиден с аномалии, включващи дицентрици, вторични стеснения и голям телоцентричен маркер. Честота на фенотипа Продукт: 0.0742

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**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** Препоръчва се съотношение от 1:3 до 1:6**Seeding density** 1×10^4 клетки/cm²**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**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.

Клетки SK-MEL-2 | 300423

**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки SK-MEL-2 | 300423**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 / Генетичен профил / HLA**Sterility**

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базиран анализ, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

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: 10,12
D13S317: 11
D16S539: 8,9
D5S818: 12,13
D7S820: 11,12
TH01: 9
TPOX: 8,9
vWA: 17,18
D3S1358: 14,16
D21S11: 29,3
D18S51: 15,16
Penta E: 7,16
Penta D: 10,15
D8S1179: 12,13
FGA: 19, 21, 25