

Клетки SK-MEL-1 | 300424

Обща информация

Description	Тази клетъчна линия е създадена през 1966 г. от F. Oettgen и сътрудници, като са използвани клетки от гръдния канал на пациент. Налице са пигментни гранули, свързани както със синтеза, така и с фагоцитозата. Според нашите резултати от секвенирането, WB и PCR тази клетъчна линия носи мутация BRAF V600E. Клетките са от див тип N-Ras.
Organism	Човек
Tissue	Кожа
Disease	Меланома
Metastatic site	Торакален лимфен канал
Synonyms	SK-Mel-1, SK Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel1, SKMEL-1, SkMEL-1, SKMEL1, SKMEL1, SK 1

Характеристики

Age	29 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Сферични
Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Citation	SK-MEL-1 (каталожен номер 300424 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0068

Биомолекулярни данни

Клетки SK-MEL-1 | 300424

Antigen expression	Кръвна група A, Rh+. Антитела към тази линия са открити при 63% от пациентите с малигнен меланом и при 10% от пациентите с други заболявания.
Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B,
Tumorigenic	Да, при голи мишки. Образува пигментирани малигнени меланоми. Образува тумори и в бузите на третирани с кортизон хамстери
Products	Меланин
Mutational profile	Мутацията на BRAF тип V600E е определена чрез ДНК методи (секвениране, RT-PCR) и протеинови методи (Western Blot)
Работа с	
Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 15 % топлинно инактивиран FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност 5×10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от 3×10^5 до 1×10^6 клетки/ml за оптимален растеж.
Split ratio	Препоръчва се съотношение от 1:2 до 1:4
Seeding density	1 до 2×10^5 клетки/ml
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-1 | 300424

**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-1 | 300424

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-базирани анализи, 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, y
CSF1PO: 12,13
D13S317: 11
D16S539: 11,12
D5S818: 12,13
D7S820: 12
TH01: 6
TPOX: 11
vWA: 16,17
D3S1358: 14,16
D21S11: 29,32,2
D18S51: 13,16
Penta E: 7,21
Penta D: 11,13
D8S1179: 13,16
FGA: 18,2

HLA алели

A*: '26:01:01
B*: '35:01:01, '38:01:01
C*: '04:01:01, '12:03:01
DRB1*: '04:02:01
DQA1*: '03:01:01
DQB1*: '03:02:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01, '01:03:01