

Buňky SK-MEL-1 | 300424

Obecné informace

Description Tuto buněčnou linii vytvořil v roce 1966 F. Oettgen a jeho spolupracovníci na základě buněk z hrudního kanálu pacienta. Jsou přítomna pigmentová granula související se syntézou i fagocytózou. Podle našich výsledků sekvenování, WB a PCR nese tato buněčná linie mutaci BRAF V600E. Buňky jsou divokého typu N-Ras.

Organism Člověk

Tissue Kůže

Disease Melanom

Metastatic site Hrudní lymfatický kanál

Synonyms SK-Mel-1, SK Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel1, SKMEL-1, SkMEL-1, SKMEL1, SK 1

Charakteristika

Age 29 let

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Morphology Sférické

Growth properties Zavěšení

Regulační údaje

Citation SK-MEL-1 (katalogové číslo Cytion 300424)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0068

Biomolekulární data

Buňky SK-MEL-1 | 300424

Antigen expression Krevní skupina A, Rh+. Protilátky proti této linii byly zjištěny u 63 % pacientů s maligním melanomem a u 10 % pacientů s jinými chorobami.

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B,

Tumorigenic Ano, na nahých myších. Tvoří pigmentované maligní melanomy. Tvoří také nádory v lícním vaku křečků léčených kortizonem

Products Melanin

Mutational profile Mutace V600E typu BRAF byla stanovena metodami založenými na DNA (sekvenování, RT-PCR) a metodami založenými na proteinech (Western Blot)

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,1 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Doplněte médium o 15 % tepelně inaktivovaného FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou 5×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3×10^5 až 1×10^6 buněk/ml.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4

Seeding density 1 až 2×10^5 buněk/ml

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky SK-MEL-1 | 300424**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky SK-MEL-1 | 300424**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil 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

Alely HLA

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