Product sheet

SK-MEL-5 rakud | 300157

Üldine teave

Description	See on üks väga ulatuslikust melanoomi liinide seeriast, mille T. Takahashi ja kaaslased on isoleerinud. Need liinid olid sihtrakkude allikaks melanoomile spetsiifiliste antikehade avastamiseks selle haigusega patsientidel.
Organism	Inimene
Tissue	Nahk
Disease	Melanoom
Metastatic site	Aksillaarne lümfisõlm
Applications	melanoomi uurimine; nahavähi bioloogia; melanoomi ravimite suhtes tundlikkus; kontrollpunkti inhibiitorite hindamine; MAPK/ERK signaalitee uuringud; rakkude ränne ja invasiivsus; ksenotransplantaadi mudelid; NK-rakkude ja T-rakkude tsütotoksilisuse testid (sihrakud)
Synonyms	SK-Mel-5, SK MEL 5, SK.MEL.5, SK-MEL5, SKMel-5, SKMEL-5, SKMEL-5, SKMEL5, SKMel5, SKmel5, AA-Mel

Omadused

Age	24 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Stellate
Cell type	Melanotsüüdid/melanoomi rakud
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	SK-MEL-5 (Cytioni kataloginumber 300157)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

SK-MEL-5 rakud | 300157

CellosaurusAccession	CVCL_0527
GMO Status	Geneetiliselt muundamata; T. Takahashi jt poolt isoleeritud looduslik melanoomi rakuliin.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	P53 positiivne
Isoenzymes	PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, fenotüübi sageduse toode: 0.0860
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel, moodustab pahaloomulise melanoomi
Products	Melaniin

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	umbes 24–36 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1–3
Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

SK-MEL-5 rakud | 300157

Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}/cm^2$ ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SK-MEL-5 rakud | 300157

Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
STR-profiil	**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
HLA alleles	**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