

SK-MEL-2 rakud | 300423

Üldine teave

Description SK-MEL-2 rakkude tutvustamine, mis on 60-aastase valge meespatsiendi, kellel on pahaloomuline melanoom, rakuliin. Need rakud ekspresseerivad metsikut tüüpi B-Rafi ja mutantset N-Ras'i (Q61R). SK-MEL-2 rakud, mille kahekordistumisaeg on 32 tundi, on väärtuslik vahend melanoomi uurimiseks. Melanoom tekib, kui melanotsüütides tekivad mutatsioonid, mis viivad kontrollimatu paljunemise ja vähi arenguni. SK-MEL-2 rakke kasutades saavad teadlased tutvuda melanoomi mehhanismidega ja uurida võimalikke ravimeetodeid.

Organism Inimene

Tissue Nahk

Disease Melanoom

Metastatic site Reie nahk

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

Omadused

Age 60 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Polügonaalne

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation SK-MEL-2 (Cytioni katalooginumbr 300423)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0069

SK-MEL-2 rakud | 300423

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel. Moodustab pahaloomulist melanoomi
Products	Melaniin
Karyotype	(P6) hüpodiploidne kuni hüpertetraploidne, millel on kõrvalekalded, sealhulgas ditsentrilised, sekundaarsed konstriksioonid ja suur telotsentriline marker. Fenotüübi sageduse toode: 0.0742

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
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 söötme, 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	Soovitav on suhe 1:3 kuni 1:6
Seeding density	1 x 10 ⁴ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SK-MEL-2 rakud | 300423

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SK-MEL-2 rakud | 300423

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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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