

## SK-MEL-1 rakud | 300424

## Üldine teave

<b>Description</b>	See rakuliin loodi 1966. aastal F. Oettgeni ja kaaslaste poolt, kasutades ühe patsiendi rindkere rakke. Esinevad nii sünteesi kui ka fagotsütoosiga seotud pigmentgraanulid. Meie sekveneerimise, WB ja PCR tulemuste kohaselt kannab see rakuliin BRAF V600E mutatsiooni. Rakud on N-Ras metsikut tüüpi.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Nahk
<b>Disease</b>	Melanoom
<b>Metastatic site</b>	Rinna lümfitee
<b>Synonyms</b>	SK-Mel-1, SK Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel1, SKMEL-1, SKMEL-1, SKMEL-1, SKMEL1, SK 1

## Omadused

<b>Age</b>	29 aastat
<b>Gender</b>	Mees
<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Morphology</b>	Sfääriline
<b>Growth properties</b>	Peatamine

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	SK-MEL-1 (Cytioni katalooginumber 300424)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0068

## Biomolekulaarsed andmed

**SK-MEL-1 rakud | 300424**

**Antigen expression** Veregrupp A, Rh+. Antikehad selle liini suhtes tuvastati 63%-l pahaloomulise melanoomiga patsientidest ja 10%-l teiste haigustega patsientidest.

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

**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel. Moodustab pigmenteerunud pahaloomulisi melanoomi. Moodustab kasvavad ka kortisooniga ravitud hamstritel põsepõskedes

**Products** Melaniin

**Mutational profile** V600E tüüpi BRAF-mutatsioon määrati DNA-põhiste meetodite (sekveneerimine, RT-PCR) ja valgupõhiste meetodite (Western Blot) abil

**Töötlemine**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,1 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)

**Supplements** Täiendatakse keskkonda 15% soojusinaktiveeritud FBS-iga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega  $5 \times 10^5$  rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus  $3 \times 10^5$  kuni  $1 \times 10^6$  rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.

**Split ratio** Soovitav on suhe 1:2 kuni 1:4

**Seeding density** 1 kuni  $2 \times 10^5$  rakku/ml

**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena 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-1 rakud | 300424

### 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 vial 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 vial 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%  $\text{CO}_2$ , 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-1 rakud | 300424

### 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, 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 alleles

**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