

SK-MEL-5-solut | 300157

Yleisiä tietoja

Description	Tämä on yksi T. Takahashin ja kumppaneiden eristämistä erittäin laajoista melanoomalinjoista. Linjat toimivat kohdesolujen lähteenä melanoomaspesifisten vasta-aineiden osoittamiseksi tätä tautia sairastavilla potilailla.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho
Disease	Melanooma
Metastatic site	Aksillaarinen imusolmuke
Applications	Melanoomatutkimus; ihosyövän biologia; melanooman lääkeherkkyys; tarkistuspisteinhibiittorien arviointi; MAPK/ERK-signaalireitin tutkimukset; solujen migraatio ja invaasio; ksenotransplantaattimallit; NK-solujen ja T-solujen sytotoksisuusmääritykset (kohdesolut)
Synonyms	SK-Mel-5, SK MEL 5, SK.MEL.5, SK-MEL5, SKMel-5, SKMEL-5, SKMEL-5, SKMEL5, SKMel5, SKmel5, AA-Mel

Ominaisuudet

Age	24 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Stellate
Cell type	Melanosyytit/melanoomasolut
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	SK-MEL-5 (Cytionin luettelonumero 300157)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

SK-MEL-5-solut | 300157

CellosaurusAccession CVCL_0527**GMO Status** Ei geenimuunnoksia; T. Takahashin ym. eristämä villityyppinen melanoomasolulinja.**Biomolekyylitiedot****Protein expression** P53-positiivinen**Isoenzymes** PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0860**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä, muodostaa pahanlaatuisen melanooman**Products** Melaniini**Käsittely****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** noin 24–36 tuntia**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Split ratio** 1-3**Seeding density** 1×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

SK-MEL-5-solut | 300157**Post-Thaw Recovery**

Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

SK-MEL-5-solut | 300157**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

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

SK-MEL-5-solut | 300157

HLA-alleelit

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