

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
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
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	SK-MEL-5 (Cytionin luettelonumero 300157)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0527

Biomolekyylitiedot

SK-MEL-5-solut | 300157

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 NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
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	Suosittelava suhde on 1:3–1:6
Seeding density	1 x 10 ⁴ solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10 ⁴ solua/cm ² 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 luettelotunnus 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

SK-MEL-5-solut | 300157

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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-prosenttisellä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

SK-MEL-5-solut | 300157

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä 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

Mykoplasmakontaminaatio 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

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