

SK-MEL-2-solut | 300423

Yleisiä tietoja

Description	Esittelyssä SK-MEL-2-solut, 60-vuotiaasta valkoihoisesta miespotilaasta, jolla on pahanlaatuinen melanooma, peräisin oleva solulinja. Nämä solut ilmentävät villityypistä B-Rafia ja mutanttista N-Rasia (Q61R). SK-MEL-2-solut, joiden kaksinkertaistumisaika on 32 tuntia, ovat arvokas väline melanooman tutkimiseen. Melanooma syntyy, kun melanosyyteissä tapahtuu mutaatioita, jotka johtavat hallitsemattomaan lisääntymiseen ja syövän kehittymiseen. SK-MEL-2-soluja käyttämällä tutkijat voivat saada tietoa melanooman mekanismeista ja tutkia mahdollisia hoitomuotoja.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho
Disease	Melanooma
Metastatic site	Reiden iho
Synonyms	SK-Mel-2, SK-Mel 2, SK-mel-2, SK-MEL2, SK.MEL.2, SK Mel 2, SK Mel 2, SK MEL 2, SKMEL-2, SKMEL2, SKmel2, SK-ML2, SKml2, SKml2

Ominaisuudet

Age	60 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Polygonal
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	SK-MEL-2 (Cytionin luettelonumero 300423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

SK-MEL-2-solut | 300423

CellosaurusAccession CVCL_0069

Biomolekyyli tiedot

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä. Muodostaa pahanlaatuisen melanooman**Products** Melaniini**Karyotype** (P6) hypodiploidisesta hypertetraploidiseen, poikkeavuuksia, kuten diksentrisiä, sekundaarisia supistumia ja suuri telosentrisen merkki. Fenotyypin frekvenssituote: 0.0742

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**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-vaimeella, 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 väliainetta.**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:3–1:6**Seeding density** 1×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**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.

SK-MEL-2-solut | 300423

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 $300 \times g$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

SK-MEL-2-solut | 300423

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

Mykoplasmaakontaminaatio 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: 10,12
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