

SK-MEL-1-solut | 300424

Yleisiä tietoja

Description	F. Oettgen ja kumppanit perustivat tämän solulinjan vuonna 1966 käyttäen erään potilaan rintakäytävästä peräisin olevia soluja. Siinä on sekä synteesiin että fagosytoosiin liittyviä pigmenttirakeita. Sekvensointi-, WB- ja PCR-tulostemme mukaan tässä solulinjassa on BRAF V600E -mutaatio. Solut ovat N-Ras-villiiä tyyppiä.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho
Disease	Melanooma
Metastatic site	Rintakehän imusuonikanava
Synonyms	SK-Mel-1, SK Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel1, SK-Mel1, SKMEL-1, SkMEL-1, SKMEL-1, SKMEL1, SK 1

Ominaisuudet

Age	29 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Pallomainen
Growth properties	Jousitus

Säätelytiedot

Citation	SK-MEL-1 (Cytionin luettelonumero 300424)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0068

Biomolekyyli tiedot

SK-MEL-1-solut | 300424

Antigen expression Veriryhmä A, Rh+. Tämän linjan vasta-aineita havaittiin 63 prosentilla potilaista, joilla oli pahanlaatuinen melanooma, ja 10 prosentilla potilaista, joilla oli muita sairauksia.

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

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä. Muodostaa pigmentoituneita pahanlaatuisia melanoomia. Muodostaa kasvaimia myös kortisonilla hoidettujen hamsterien poskipussissa

Products Melaniini

Mutational profile V600E-tyyppinen BRAF-mutaatio määritettiin DNA-pohjaisilla menetelmillä (sekvensointi, RT-PCR) ja proteiinipohjaisilla menetelmillä (Western Blot)

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,1 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 15 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 5×10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä $3 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.

Split ratio Suositeltava suhde on 1:2–1:4

Seeding density $1-2 \times 10^5$ solua/ml

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-1-solut | 300424

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-1-solut | 300424

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, 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-alleelit

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