

SK-MEL-28 ląstelės | 300337

Bendra informacija

Description	Šią ląstelių liniją iš nežinomos tautybės 51 metų vyro pažasties limfmazgio nustatė T. Takahashi ir jo bendradarbiai, kurie šią ląstelių liniją išskyrė iš melanomos linijų serijos.
Organism	Žmogus
Tissue	Odos
Disease	Odos melanoma
Synonyms	SK-Mel-28, SK.MEL.28, SK-MEL 28, SK MEL-28, SK MEL 28, SK MEL 28, SK Mel 28, SKMel-28, SKMEL-28, SK-MEL28, SK-MEL28, SK-Mel28, SK Mel28, SKMEL28, SKMel28, SKmel28, SKML-28, SK28, AU-Mel, P-36, P36

Charakteristikos

Age	51 metai
Gender	Vyras
Morphology	Daugiakampis
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	SK-MEL-28 (Cytion katalogo numeris 300337)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0526

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	P53 teigiamas
Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B

SK-MEL-28 ląstelės | 300337

Tumorigenic Taip, nuogoms pelėms. Formuojasi piktybinė melanoma (didelių apvalių ląstelių tipas)

Products Melaninas

Mutational profile BRAF V600E mut: V600E tipo BRAF mutacija nustatyta DNR metodais (sekos nustatymas, RT-PCR) ir baltymiais metodais (Western Blot), N-Ras wt

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio Rekomenduojamas santykis 1:3

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Palikite bent 48 valandas po atšildymo, kol bus pašalinta terpė arba subkultūra

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

SK-MEL-28 ląstelės | 300337

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

SK-MEL-28 ląstelės | 300337**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

Amelogenin: x, y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11, 12
D16S539: 9,12
D5S818: 13
D7S820: 10
TH01: 7
TPOX: 8,12
vWA: 16,19
D3S1358: 16,18
D21S11: 28, 29
D18S51: 12,16
Penta E: 8,12
Penta D: 9,1
D8S1179: 13
FGA: 19

HLA aleliai

A*: '11:01:01
B*: '40:01:02
C*: '03:04:01
DRB1*: '04:04:01
DQA1*: '03:01:01
DQB1*: '03:02:01
DPB1*: '03:01:01
E: '01:03:02