

## SK-MEL-5 šūnas | 300157

## Vispārīga informācija

<b>Description</b>	Šī ir viena no ļoti plašām melanomas līniju sērijām, ko izdalīja T. Takahaši un viņa līdzstrādnieki. Šīs līnijas kalpoja kā mērķa šūnu avots melanomai specifisku antivielu noteikšanai pacientiem ar šo slimību.
<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Āda
<b>Disease</b>	Melanoma
<b>Metastatic site</b>	Aksilārais limfmezgls
<b>Applications</b>	Melanomas pētījumi; ādas vēža bioloģija; melanomas jutība pret zālēm; kontrolpunktu inhibitoru novērtēšana; MAPK/ERK signālceļa pētījumi; šūnu migrācija un invāzija; ksenotransplantātu modeļi; NK šūnu un T šūnu citotoksicitātes analīzes (mērķa šūnas)
<b>Synonyms</b>	SK-Mel-5, SK MEL 5, SK.MEL.5, SK-MEL5, SKMel-5, SKMEL-5, SKMEL5, SKMel5, SKMel5, SKmel5, AA-Mel

## Raksturojums

<b>Age</b>	24 gadi
<b>Gender</b>	Sievietes
<b>Ethnicity</b>	Kaukāzietis
<b>Morphology</b>	Stellate
<b>Cell type</b>	Melanocīti/melanomas šūnas
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	SK-MEL-5 (Cytion kataloga numurs 300157)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

## SK-MEL-5 šūnas | 300157

**CellosaurusAccession** CVCL\_0527**GMO Status** Nav ģenētiski modificēta; savvaļas tipa melanomas šūnu līnija, ko izdalīja T. Takahashi un kolēģi.**Biomolekulārie dati****Protein expression** P53 pozitīvs**Isoenzymes** PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotipu biežuma produkts: 0.0860**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm veido ļaundabīgu melanomu**Products** Melanīns**Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aptuveni 24 līdz 36 stundas**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Split ratio** no 1 līdz 3**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

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

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

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

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Shipping Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA****Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

**STR profils**

**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 šūnas | 300157**

**HLA alēles**

**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