

SK-MEL-5 šūnas | 300157

Vispārīga informācija

Description	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.
Organism	Cilvēks
Tissue	Āda
Disease	Melanoma
Metastatic site	Aksilārais limfmezgls
Synonyms	SK-Mel-5, SK MEL 5, SK.MEL.5, SK-MEL5, SKMel-5, SKMEL-5, SKMEL5, SKMel5, SKMel5, SKmel5, AA-Mel

Raksturojums

Age	24 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Stellate
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	SK-MEL-5 (Cytion kataloga numurs 300157)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0527

Biomolekulārie dati

SK-MEL-5 šūnas | 300157

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 ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
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.
Seeding density	1 x 10 ⁴ šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10 ⁴ šūnas/cm ² 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.

SK-MEL-5 šūnas | 300157

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, 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_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

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.

SK-MEL-5 šūnas | 300157

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

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