

SK-MEL-1 šūnas | 300424

Vispārīga informācija

Description	Šo šūnu līniju 1966. gadā izveidoja F. Oettgens un līdzstrādnieki, izmantojot šūnas no pacienta krūšu kurvja kanāla. Ir pigmenta granulas, kas saistītas gan ar sintēzi, gan fagocitozi. Saskaņā ar mūsu sekvencēšanas, WB un PCR rezultātiem šajā šūnu līnijā ir BRAF V600E mutācija. Šūnas ir N-Ras savvaļas tipa.
Organism	Cilvēks
Tissue	Āda
Disease	Melanoma
Metastatic site	Krūšu limfvads
Synonyms	SK-Mel-1, SK Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel1, SKMEL-1, SkMEL-1, SKMEL1, SKMEL1, SK 1

Raksturojums

Age	29 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Sfēriskais
Growth properties	Apturēšana

Normatīvie dati

Citation	SK-MEL-1 (Cytion kataloga numurs 300424)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0068

Biomolekulārie dati

SK-MEL-1 šūnas | 300424

Antigen expression	A asinsgrupa, Rh+. Antiviēlas pret šo līniju tika konstatētas 63 % pacientu ar ļaundabīgu melanomu un 10 % pacientu ar citām slimībām.
Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B,
Tumorigenic	Jā, kailām pelēm. Veido pigmentētas ļaundabīgas melanomas. Veido audzējus arī ar kortizonu apstrādātu kāmjū vaigu maisījumā
Products	Melanīns
Mutational profile	V600E tipa BRAF mutāciju noteica ar DNS metodēm (sekvenēšana, RT-PCR) un olbaltumvielu metodēm (Western Blot)
Darbs ar	
Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 15% termiski inaktivētu FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 5×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3×10^5 līdz 1×10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.
Split ratio	Ieteicams izmantot proporciju no 1:2 līdz 1:4
Seeding density	1 līdz 2×10^5 šūnas/ml
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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-1 šūnas | 300424**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 pārnēsiet 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 pārnēsāt 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

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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-1 šūnas | 300424**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 un molekulārā analīze**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.

STR profils

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 alēles

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