

SK-MEL-5-celler | 300157

Generell informasjon

| | |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Description | Dette er en av en svært omfattende serie melanomlinjer som er blitt isolert av T. Takahashi og medarbeidere. Linjene fungerte som kilde til målceller for påvisning av melanomspesifikke antistoffer hos pasienter med denne sykdommen. |
| Organism | Menneskelig |
| Tissue | Hud |
| Disease | Melanom |
| Metastatic site | Axillær lymfeknute |
| Synonyms | SK-Mel-5, SK MEL 5, SK.MEL.5, SK-MEL5, SKMel-5, SKMEL-5, SKMEL5, SKMel5, SKMel5, SKmel5, AA-Mel |

Kjennetegn

| | |
|--------------------------|-------------|
| Age | 24 år |
| Gender | Kvinne |
| Ethnicity | Kaukasisk |
| Morphology | Stellat |
| Growth properties | Vedhengende |

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

SK-MEL-5-celler | 300157

| | |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Protein expression | P53-positiv |
| Isoenzymes | PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotypefrekvensprodukt: 0.0860 |
| Tumorigenic | Ja, i nakne mus, danner malignt melanom |
| Products | Melanin |
| Håndtering | |
| Culture Medium | EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO ₃ , m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a) |
| Supplements | Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium. |
| Split ratio | Et forhold på 1:3 til 1:6 anbefales |
| Seeding density | 1 x 10 ⁴ celler/cm ² |
| Fluid renewal | 2 til 3 ganger per uke |
| Post-Thaw Recovery | Etter tining, plasser cellene på 5 x 10 ⁴ celler/cm ² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer. |
| Freeze medium | Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress. |

SK-MEL-5-celler | 300157

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

SK-MEL-5-celler | 300157

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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

HLA-alleler

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