

**SK-MEL-1-celler | 300424****Generell informasjon**

**Description** Denne cellelinjen ble etablert i 1966 av F. Oettgen og medarbeidere ved hjelp av celler fra thoraxkanalen til en pasient. Pigmentgranuler knyttet både til syntese og fagocytose er til stede. I henhold til våre sekvenserings-, WB- og PCR-resultater bærer denne cellelinjen en BRAF V600E-mutasjon. Cellene er N-Ras villtype.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Hud

**Disease** Melanom

**Metastatic site** Lymfekanal i thorax

**Synonyms** SK-Mel-1, SK Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel 1, SK-Mel1, SKMEL-1, SkMEL-1, SKMEL1, SK 1

**Kjennetegn**

**Age** 29 år

**Gender** Mann

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Sfærisk

**Growth properties** Oppheng

**Regulatoriske data**

**Citation** SK-MEL-1 (Cytion-katalognummer 300424)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0068

**Biomolekylære data**

**SK-MEL-1-celler | 300424**

**Antigen expression** Blodtype A, Rh+. Antistoff mot denne linjen ble påvist hos 63 % av pasientene med malignt melanom og hos 10 % av pasientene med andre sykdommer.

**Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B,

**Tumorigenic** Ja, i nakne mus. Danner pigmenterte maligne melanomer. Danner også svulster i kinnposen hos kortisonbehandlede hamstere

**Products** Melanin

**Mutational profile** V600E-type BRAF-mutasjon ble bestemt ved hjelp av DNA-baserte metoder (sekvensering, RT-PCR) og proteinbaserte metoder (Western Blot)

**Håndtering**

**Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,1 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)

**Supplements** Tilsett 15 % varmeinaktivert FBS i mediet

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på  $5 \times 10^5$  celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området  $3 \times 10^5$  til  $1 \times 10^6$  celler/ml for optimal vekst.

**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales

**Seeding density** 1 til  $2 \times 10^5$  celler/ml

**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

**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-1-celler | 300424

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost 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 cellepelletten 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 %  $\text{CO}_2$ , 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-1-celler | 300424

### 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,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-alleler

**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