

**Komórki SK-MEL-5 | 300157****Informacje ogólne**

<b>Description</b>	Jest to jedna z bardzo obszernej serii linii czerniaka, które zostały wyizolowane przez T. Takahashi i współpracowników. Linie te służyły jako źródło komórek docelowych do wykrywania przeciwciał specyficznych dla czerniaka u pacjentów z tą chorobą.
<b>Organism</b>	Człowiek
<b>Tissue</b>	Skóra
<b>Disease</b>	Czerniak
<b>Metastatic site</b>	Węzeł chłonny pachowy
<b>Synonyms</b>	SK-Mel-5, SK MEL 5, SK.MEL.5, SK-MEL5, SKMel-5, SKMEL-5, SKMEL5, SKmel5, AA-Mel

**Charakterystyka**

<b>Age</b>	24 lata
<b>Gender</b>	Kobieta
<b>Ethnicity</b>	Kaukaski
<b>Morphology</b>	Stellate
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Dane regulacyjne**

<b>Citation</b>	SK-MEL-5 (numer katalogowy Cytion 300157)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0527

**Dane biomolekularne**

## Komórki SK-MEL-5 | 300157

<b>Protein expression</b>	P53 dodatni
<b>Isoenzymes</b>	PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotyp Częstotliwość Produkt: 0.0860
<b>Tumorigenic</b>	Tak, u nagich myszy tworzy czerniaka złośliwego
<b>Products</b>	Melanina
<b>Obsługa</b>	
<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Split ratio</b>	Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości $5 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.
<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki SK-MEL-5 | 300157

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki SK-MEL-5 | 300157****Shipping  
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage  
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**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

**Allele HLA**

**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