

**Komórki SK-MEL-2 | 300423****Informacje ogólne**

**Description** Przedstawiamy komórki SK-MEL-2, linię komórkową pochodzącą od 60-letniego mężczyzny rasy białej z czerniakiem złośliwym. Komórki te wyrażają dziki typ B-Raf i zmutowany N-Ras (Q61R). Dzięki czasowi podwojenia wynoszącemu 32 godziny, komórki SK-MEL-2 stanowią cenne narzędzie do badania czerniaka. Czerniak powstaje, gdy mutacje występują w melanocytach, prowadząc do niekontrolowanego namnażania i rozwoju nowotworu. Wykorzystując komórki SK-MEL-2, naukowcy mogą uzyskać wgląd w mechanizmy czerniaka i zbadać potencjalne metody leczenia.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Skóra

**Disease** Czerniak

**Metastatic site** Skóra uda

**Synonyms** SK-Mel-2, SK-Mel 2, SK-mel-2, SK-MEL2, SK.MEL.2, SK Mel 2, SK MEL 2, SKMEL-2, SKMEL2, SKmel2, SK-ML2, SKml2

**Charakterystyka**

**Age** 60 lat

**Gender** Mężczyzna

**Ethnicity** Kaukaski

**Morphology** Wielokątny

**Growth properties** Adherent

**Dane regulacyjne**

**Citation** SK-MEL-2 (numer katalogowy Cytion 300423)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**Komórki SK-MEL-2 | 300423**

CellosaurusAccession CVCL\_0069

**Dane biomolekularne****Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy. Tworzy czerniaka złośliwego**Products** Melanina**Karyotype** (P6) hipodiploidalny do hipertetraploidalnego z nieprawidłowościami obejmującymi dicentryczność, wtórne zwiężenia i duży marker telocentryczny. Produkt częstotliwości fenotypu: 0.0742**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6**Seeding density**  $1 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** 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-2 | 300423****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 próbówki 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**

Brak

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki SK-MEL-2 | 300423

### 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 wykluczane 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:** 10,12  
**D13S317:** 11  
**D16S539:** 8,9  
**D5S818:** 12,13  
**D7S820:** 11,12  
**TH01:** 9  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 17,18  
**D3S1358:** 14,16  
**D21S11:** 29,3  
**D18S51:** 15,16  
**Penta E:** 7,16  
**Penta D:** 10,15  
**D8S1179:** 12,13  
**FGA:** 19,21,25