

Komórki SK-MEL-28 | 300337**Informacje ogólne**

Description	Ta linia komórkowa została utworzona z pachowego wężła chłonnego 51-letniego mężczyzny o nieznanym pochodzeniu etnicznym przez T. Takahashi i współpracowników, którzy wyizolowali tę linię komórkową w serii linii czerniaka.
Organism	Człowiek
Tissue	Skóra
Disease	Czerniak skóry
Synonyms	SK-Mel-28, SK.MEL.28, SK-MEL 28, SK MEL-28, SK MEL 28, SK Mel 28, SKMel-28, SKMEL-28, SK-MEL28, SK-Mel28, SK Mel28, SKMEL28, SKML-28, SK28, AU-Mel, P-36, P36

Charakterystyka

Age	51 lat
Gender	Mężczyzna
Morphology	Wielokątny
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	SK-MEL-28 (numer katalogowy Cytion 300337)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0526

Dane biomolekularne

Protein expression	P53 dodatni
---------------------------	-------------

Komórki SK-MEL-28 | 300337**Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy. Tworzy czerniaka złośliwego (typ dużych okrągłych komórek)**Products** Melanina**Mutational profile** Mutacja BRAF V600E: Mutację BRAF typu V600E określono metodami opartymi na DNA (sekwencjonowanie, RT-PCR) i metodami opartymi na białkach (Western Blot), N-Ras wt**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, 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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Pozostawić na co najmniej 48 godzin po rozmrożeniu do momentu usunięcia pożywki lub subkultury**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-28 | 300337**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°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°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°C , 5% 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°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki SK-MEL-28 | 300337**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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11,12
D16S539: 9,12
D5S818: 13
D7S820: 10
TH01: 7
TPOX: 8,12
vWA: 16,19
D3S1358: 16,18
D21S11: 28,29
D18S51: 12,16
Penta E: 8,12
Penta D: 9,1
D8S1179: 13
FGA: 19

Allele HLA

A*: '11:01:01
B*: '40:01:02
C*: '03:04:01
DRB1*: '04:04:01
DQA1*: '03:01:01
DQB1*: '03:02:01
DPB1*: '03:01:01
E: '01:03:02