

Komórki SK-MEL-1 | 300424**Informacje ogólne**

Description Ta linia komórkowa została utworzona w 1966 r. przez F. Oettgena i współpracowników przy użyciu komórek z przewodu piersiowego pacjenta. Obecne są granulki pigmentu związane zarówno z syntezą, jak i fagocytozą. Zgodnie z naszymi wynikami sekwencjonowania, WB i PCR ta linia komórkowa jest nosicielem mutacji BRAF V600E. Komórki są typu dzikiego N-Ras.

Organism Człowiek

Tissue Skóra

Disease Czerniak

Metastatic site Przewód limfatyczny klatki piersiowej

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

Charakterystyka

Age 29 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Kulisty

Growth properties Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation SK-MEL-1 (numer katalogowy Cytion 300424)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0068

Dane biomolekularne

Komórki SK-MEL-1 | 300424

Antigen expression Grupa krwi A, Rh+. Przeciwciała przeciwko tej linii wykryto u 63% pacjentów z czerniakiem złośliwym i u 10% pacjentów z innymi chorobami.

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

Tumorigenic Tak, u nagich myszy. Tworzy barwnikowe czerniaki złośliwe. Tworzy również guzy w worku policzkowym chomików leczonych kortyzonem

Products Melanina

Mutational profile Mutację BRAF typu V600E określono metodami opartymi na DNA (sekwencjonowanie, RT-PCR) i metodami opartymi na białkach (Western Blot)

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,1 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupelnic podloze o 15% FBS inaktywowanego termicznie

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

Seeding density 1 do 2×10^5 komórek/ml

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-1 | 300424**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-1 | 300424**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: 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

Allele HLA

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