

Células SK-MEL-28 | 300337

Informações gerais

Description	Esta linha celular foi estabelecida a partir de um gânglio linfático axilar de um homem de 51 anos de etnia desconhecida por T. Takahashi e colaboradores que isolaram esta linha celular numa série de linhas de melanoma.
Organism	Humano
Tissue	Pele
Disease	Melanoma cutâneo
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, SKMel28, SKmel28, SKML-28, SK28, AU-Mel, P-36, P36

Caraterísticas

Age	51 anos
Gender	Masculino
Morphology	Poligonal
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	SK-MEL-28 (número de catálogo Cytion 300337)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0526

Dados biomoleculares

Protein expression	P53 positivo
---------------------------	--------------

Células SK-MEL-28 | 300337**Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus. Forma melanoma maligno (tipo de células redondas grandes)**Products** Melanina**Mutational profile** BRAF V600E mut: A mutação BRAF do tipo V600E foi determinada por métodos baseados no ADN (sequenciação, RT-PCR) e em proteínas (Western Blot), N-Ras wt**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** Recomenda-se uma proporção de 1:3**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Deixar pelo menos 48 horas após a descongelação até à remoção do meio ou da subcultura**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células SK-MEL-28 | 300337

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células SK-MEL-28 | 300337

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil 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

Alelos 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