

Клітини SK-MEL-28 | 300337

Загальна інформація

Description	Ця клітинна лінія була отримана з пахового лімфатичного вузла 51-річного чоловіка невідомої етнічної приналежності Т.Такахаші та його співробітниками, які виділили цю клітинну лінію в серії ліній меланоми.
Organism	Людина
Tissue	Шкіра
Disease	Шкірна меланома
Synonyms	SK-Mel-28, SK.MEL.28, SK-Mel-28, SK MEL-28, SK MEL-28, SK MEL-28, SK MEL-28, SKMEL-28, SKMEL-28, SKMEL28, SKMEL28, SKMEL28, SKMEL28, SKML-28, SK28, AU-Mel, P-36, P36

Характеристики

Age	51 рік
Gender	Чоловік
Morphology	Полігональна
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	SK-MEL-28 (номер за каталогом Cytion 300337)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0526

Біомолекулярні дані

Protein expression	P53 позитивний
---------------------------	----------------

Клітини SK-MEL-28 | 300337

Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B
Tumorigenic	Так, у голих мишей. Утворює злоякісну меланому (великі круглі клітини)
Products	Меланін
Mutational profile	BRAF V600E мут: Мутацію BRAF типу V600E визначали методами на основі ДНК (секвенування, RT-PCR) та методами на основі білка (вестерн-блот), N-Ras мас

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	Рекомендується співвідношення 1:3
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Залиште принаймні на 48 годин після розморожування до видалення поживного середовища або субкультури
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини SK-MEL-28 | 300337

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини SK-MEL-28 | 300337

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA**Sterility**

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Профіль 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

HLA алелі

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