Product sheet

Buňky SK-MEL-29.1 | 300429

Obecné informace

Description	SK-MEL-29.1 je melanomová buněčná linie, která byla podrobně studována z hlediska interakcí s imunitním systémem, zejména v souvislosti s rozpoznáváním cytotoxických T-lymfocytů (CTL). Tento subklon melanomové linie SK-MEL-29 byl použit v imunologickém výzkumu k definování specifických antigenů rozpoznávaných autologními CTL. Tyto CTL se selektivně zaměřují na melanomové buňky exprimující určité antigeny, přičemž šetří nenádorové buňky. V imunoselekčních pokusech bylo zjištěno, že SK-MEL-29.1 exprimuje stabilní antigeny, které jsou důležité pro specifickou lýzu melanomových buněk CTL, což poskytuje poznatky o nádorové imunogenicitě a imunitním úniku. Jedna z klíčových studií zahrnujících SK-MEL-29.1 prokázala jeho užitečnost ve výzkumu imunoterapie rakoviny. Bylo prokázáno, že klony CTL odvozené z AV pacientů účinně cílí na buňky SK-MEL-29.1, které exprimují více antigenů současně. Díky tomu je SK-MEL-29.1 důležitým modelem pro pochopení toho, jak lze imunitní odpovědi přizpůsobit cílení na specifické antigeny u melanomu. Schopnost těchto klonů CTL identifikovat a lyzovat buňky melanomu poskytuje cenné informace pro vývoj imunoterapeutických strategií, včetně možnosti generování personalizovaných protinádorových vakcín. Kromě toho byly buňky SK-MEL-29.1 testovány také při vývoji protinádorových vakcín na bázi virů. Infekce virem Newcastleské choroby (NDV), virem s onkolytickými a imunostimulačními vlastnostmi, prokázala, že buňky SK-MEL-29.1 mohou být účinně infikovány virem NDV i po ozáření gama zářením, což z nich činí vhodného kandidáta pro vývoj živých vakcín proti rakovině. Tato infekce zvyšuje imunogenicitu nádorových buněk, což vede k silnější protinádorové imunitní odpovědi a dále podporuje použití SK-MEL-29.1 ve výzkumu vakcín.
Organism	Člověk
Tissue	Kůže
Disease	Melanom

Charakteristika

Age	19 let
Gender	Muži
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	SK-MEL-29.1 (katalogové číslo Cytion 300429)

Buňky SK-MEL-29.1 | 300429

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY54

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky SK-MEL-29.1 | 300429

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.