Product sheet

SK-MEL-29.1 rakud | 300429

Üldine teave

Description	SK-MEL-29.1 on melanoomi rakuliin, mille koostoimet immuunsüsteemiga, eelkõige tsütotoksiliste T-lümfotsüütide (CTL) äratundmise kontekstis, on põhjalikult uuritud. Seda SK-MEL-29 melanoomiliini alamklooni on kasutatud immunoloogilistes uuringutes, et määratleda spetsiifilisi antigeene, mida autoloogsed CTLid tunnevad. Need CTLid on selektiivselt suunatud teatavaid antigeene ekspresseerivate melanoomirakkude vastu, säästes samal ajal mittekantseroosseid rakke. Immunoselektsioonikatsetes leiti, et SK-MEL-29.1 ekspresseerib stabiilseid antigeene, mis on olulised melanoomirakkude spetsiifilise lüüsi jaoks CTLide poolt, andes ülevaate kasvaja immunogeensusest ja immuunsüsteemi vältimisest. Üks peamisi uuringuid, milles kasutati SK-MEL-29.1, näitas selle kasulikkust vähi immunoteraapia uuringutes. Patsientide AV-st saadud CTL-kloonide puhul näidati, et need on tõhusalt suunatud SK-MEL-29.1 rakkude vastu, mis ekspresseerivad samaaegselt mitmeid antigeene. See muudab SK-MEL-29.1 oluliseks mudeliks, et mõista, kuidas immuunvastuseid saab kohandada nii, et need oleksid suunatud konkreetsetele antigeenidele melanoomi puhul. Nende CTL-kloonide võime melanoomirakke tuvastada ja lüüsida annab väärtuslikku teavet immuunterapeutiliste strateegiate väljatöötamiseks, sealhulgas võimaluse luua personaliseeritud vähivaktsiine. Lisaks on SK-MEL-29.1 rakke katsetatud ka viiruspõhise vähivaktsiini väljatöötamisel. Nakatamine Newcastle'i haiguse viirusega (NDV), millel on onkolüütilised ja immuunsust stimuleerivad omadused, näitas, et SK-MEL-29.1 võib tõhusalt nakatada NDV-ga isegi pärast gammakiirgust, mis muudab selle sobivaks kandidaadiks vähivaktsiinide arendamiseks. Selline infektsioon suurendab kasvajarakkude immunogeensust, mis viib tugevama kasvajavastase immuunvastuse tekkimiseni, mis toetab veelgi SK-MEL-29.1 kasutamist vaktsiiniuuringutes.
Organism	Inimene
Tissue	Nahk
Disease	Melanoom

Omadused

Age	19 aastat
Gender	Mees
Morphology	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Product sheet

SK-MEL-29.1 rakud | 300429

Citation	SK-MEL-29.1 (Cytioni kataloginumber 300429)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY54

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SK-MEL-29.1 rakud | 300429

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.