Product sheet

SK-MEL-29.1-solut | 300429

Yleisiä tietoja

Description	SK-MEL-29.1 on melanoomasolulinja, jonka vuorovaikutusta immuunijärjestelmän kanssa on tutkittu laajasti, erityisesti sytotoksisten T-lymfosyyttien (CTL) tunnistamisen yhteydessä. Tätä SK-MEL-29-melanoomalinjan alakloonia on käytetty immunologisessa tutkimuksessa määrittelemään erityisiä antigeenejä, jotka autologiset CTL:t tunnistavat. Nämä CTL:t kohdistuvat valikoivasti tiettyjä antigeenejä ilmentäviin melanoomasoluihin ja säästävät samalla muita kuin syöpäsoluja. Immunoselektiokokeissa SK-MEL-29.1:n havaittiin ilmentävän vakaita antigeenejä, jotka ovat tärkeitä CTL:ien suorittaman melanoomasolujen spesifisen lyysauksen kannalta, mikä antaa tietoa kasvaimen immunogeenisuudesta ja immuunijärjestelmän kiertämisestä. Yksi tärkeimmistä tutkimuksista, joissa käytettiin SK-MEL-29.1:tä, osoitti sen hyödyllisyyden syövän immunoterapiatutkimuksessa. Potilaan AV:sta johdettujen CTL-kloonien osoitettiin kohdistuvan tehokkaasti SK-MEL-29.1-soluihin, jotka ilmentävät useita antigeenejä samanaikaisesti. Tämä tekee SK-MEL-29.1:stä tärkeän mallin sen ymmärtämiseksi, miten immuunivasteet voidaan räätälöidä kohdistumaan tiettyihin melanooman antigeeneihin. Näiden CTL-kloonien kyky tunnistaa ja lyysiä melanoomasoluja tarjoaa arvokasta tietoa immunoterapeuttisten strategioiden kehittämistä varten, mukaan lukien mahdollisuus luoda yksilöllisiä syöpärokotteita. Lisäksi SK-MEL-29.1-soluja on testattu myös viruspohjaisten syöpärokotteiden kehittämisessä. Infektio Newcastlen tautiviruksella (NDV), jolla on onkolyyttisiä ja immuunijärjestelmää stimuloivia ominaisuuksia, osoitti, että SK-MEL-29.1-solut voidaan tehokkaasti infektoida NDV:llä jopa gammasäteilytyksen jälkeen, mikä tekee niistä sopivan ehdokkaan elävien syöpärokotteiden kehittämiseen. Tämä infektio lisää kasvainsolujen immunogeenisuutta, mikä johtaa voimakkaampaan kasvaimen vastaiseen immuunivasteeseen, mikä tukee entisestään SK-MEL-29.1:n käyttöä rokotetutkimuksessa.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho
Disease	Melanooma

Ominaisuudet

Age	19 vuotta
Gender	Mies
Morphology	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

SK-MEL-29.1-solut | 300429

Citation	SK-MEL-29.1 (Cytionin luettelonumero 300429)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY54

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

SK-MEL-29.1-solut | 300429

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.