

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 alakloonina 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 llyysauksen 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 llyysiä 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 onkolyttisiä 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

Säätelytiedot

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 NaHCO ₃ , 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 tuoreessa väliaineessa 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 syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

SK-MEL-29.1-solut | 300429

**Storage
Conditions**

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.