Product sheet

SK-MEL-29.1 sejtek | 300429

Általános információk

Description	Az SK-MEL-29.1 egy olyan melanoma-sejtvonal, amelyet széles körben vizsgáltak az immunrendszerrel való kölcsönhatásairól, különösen a citotoxikus T-limfociták (CTL) felismerésével összefüggésben. Az SK-MEL-29 melanoma vonalnak ezt az alklónját immunológiai kutatásokban használták az autológ CTL-ek által felismert specifikus antigének meghatározására. Ezek a CTL-ek szelektíven célozzák meg a bizonyos antigéneket expresszáló melanomasejteket, miközben a nem rákos sejteket megkímélik. Az immunszelekciós kísérletekben az SK-MEL-29.1 stabil antigéneket expresszált, amelyek fontosak a melanómasejtek CTL-ek általi specifikus líziséhez, így betekintést nyújt a tumor immunogenitásába és az immunelkerülésbe. Az SK-MEL-29.1-gyel végzett egyik kulcsfontosságú vizsgálat bizonyította annak hasznosságát a rák immunterápiás kutatásában. A beteg AV-ból származó CTL-klónokról kimutatták, hogy hatékonyan célozzák meg az SK-MEL-29.1 sejteket, amelyek egyszerre több antigént expresszálnak. Ez teszi az SK-MEL-29.1-et fontos modellé annak megértéséhez, hogyan lehet az immunválaszokat úgy alakítani, hogy azok a melanoma specifikus antigénjeit célozzák. Ezeknek a CTL-klónoknak a melanomasejtek azonosítására és lízisére való képessége értékes információt nyújt az immunterápiás stratégiák fejlesztéséhez, beleértve a személyre szabott rák elleni vakcinák létrehozásának lehetőségét is. Továbbá az SK-MEL-29.1 sejteket vírusalapú rák elleni vakcina fejlesztésében is tesztelték. A Newcastle-betegség vírusával (NDV), egy onkolitikus és immunstimuláló tulajdonságokkal rendelkező vírussal való fertőzés bebizonyította, hogy az SK-MEL-29.1 gamma-sugárzást követően is hatékonyan fertőződik NDV-vel, így alkalmas jelölt élő rák elleni vakcinák kifejlesztésére. Ez a fertőzés fokozza a tumorsejtek immunogenitását, ami erőteljesebb tumorellenes immunválaszt eredményez, ami tovább támogatja az SK-MEL-29.1 vakcinakutatásban való felhasználását.
Organism	Emberi
Tissue	Bőr
Disease	Melanoma

Jellemzők

Age	19 év
Gender	Férfi
Morphology	Epithelialis
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

SK-MEL-29.1 sejtek | 300429

Citation	SK-MEL-29.1 (Cytion katalógusszám: 300429)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY54

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

SK-MEL-29.1 sejtek | 300429

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

SK-MEL-29.1 sejtek | 300429

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.