Product sheet

SK-MEL-29.1 ląstelės | 300429

Bendra informacija

Description	SK-MEL-29.1 yra melanomos ląstelių linija, kurios sąveika su imunine sistema, ypač citotoksinių T limfocitų (CTL) atpažinimo kontekste, buvo plačiai tiriama. Šis SK-MEL-29 melanomos linijos subklonas buvo naudojamas imunologiniuose tyrimuose siekiant nustatyti specifinius antigenus, kuriuos atpažįsta autologiniai CTL. Šie CTL selektyviai veikia tam tikrus antigenus išreiškiančias melanomos ląsteles, tačiau tausoja nevėžines ląsteles. Atliekant imunoselekcijos eksperimentus nustatyta, kad SK-MEL-29.1 išreiškia stabilius antigenus, kurie yra svarbūs specifinei melanomos ląstelių lizei, kurią atlieka CTL, ir tai leidžia suprasti naviko imunogeniškumą ir imuninės sistemos išvengimą. Vienas iš svarbiausių tyrimų, atliktų su SK-MEL-29.1, parodė jo naudingumą vėžio imunoterapijos tyrimams. Nustatyta, kad CTL klonai, gauti iš pacientų AV, veiksmingai veikia SK-MEL-29.1 ląsteles, kurios vienu metu išreiškia kelis antigenus. Dėl to SK-MEL-29.1 yra svarbus modelis, padedantis suprasti, kaip galima pritaikyti imuninį atsaką, kad jis būtų nukreiptas į specifinius melanomos antigenus. Šių CTL klonų gebėjimas atpažinti ir sunaikinti melanomos ląsteles suteikia vertingos informacijos imunoterapijos strategijų kūrimui, įskaitant galimybę sukurti individualizuotas vėžio vakcinas. Be to, SK-MEL-29.1 ląstelės taip pat buvo išbandytos kuriant virusais pagrįstas vėžio vakcinas. Užkrėtimas Niukaslo ligos virusu (NDV), virusu, pasižyminčiu onkolitinėmis ir imunitetą stimuliuojančiomis savybėmis, parodė, kad SK-MEL-29.1 ląstelės gali būti efektyviai užkrėstos NDV net ir po gama spinduliuotės, todėl jos yra tinkamos kandidatės gyvų vėžio vakcinų kūrimui. Ši infekcija padidina naviko ląstelių imunogeniškumą, todėl atsiranda stipresnis priešvėžinis imuninis atsakas, o tai dar labiau patvirtina SK-MEL-29.1 naudojimą vakcinų tyrimams.
Organism	Žmogus
Tissue	Odos
Disease	Melanoma

Charakteristikos

Age	19 metų
Gender	Vyras
Morphology	Epitelis
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

SK-MEL-29.1 ląstelės | 300429

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

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

SK-MEL-29.1 ląstelės | 300429

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.