Product sheet

SK-MEL-29.1 šūnas | 300429

Vispārīga informācija

Description	SK-MEL-29.1 ir melanomas šūnu līnija, kuras mijiedarbība ar imūnsistēmu, īpaši saistībā ar citotoksisko T-limfocītu (CTL) atpazīšanu, ir plaši pētīta. Šis SK-MEL-29 melanomas līnijas subklons ir izmantots imunoloģiskajos pētījumos, lai noteiktu specifiskus antigēnus, ko atpazīst autologās CTL. Šie CTL selektīvi mērķē uz melanomas šūnām, kas ekspresē noteiktus antigēnus, vienlaikus saudzējot neraksturīgas šūnas. Imūnselekcijas eksperimentos tika konstatēts, ka SK-MEL-29.1 ekspresē stabilus antigēnus, kas ir svarīgi specifiskai melanomas šūnu līzei, ko veic CTL, sniedzot ieskatu audzēja imunogenitātē un imūnsistēmas apiešanā. Viens no galvenajiem pētījumiem ar SK-MEL-29.1 parādīja tās lietderību vēža imūnterapijas pētījumos. Tika pierādīts, ka CTL kloni, kas iegūti no pacientu AV, efektīvi vēršas pret SK-MEL-29.1 šūnām, kuras vienlaikus ekspresē vairākus antigēnus. Tas padara SK-MEL-29.1 par svarīgu modeli, lai saprastu, kā imūnās atbildes reakcijas var pielāgot, lai vērstos pret specifiskiem melanomas antigēniem. Šo CTL klonu spēja identificēt un noārdīt melanomas šūnas sniedz vērtīgu informāciju imūnterapijas stratēģiju izstrādei, tostarp iespēju radīt personalizētas vēža vakcīnas. Turklāt SK-MEL-29.1 šūnas ir pārbaudītas arī uz vīrusiem balstītu vēža vakcīnu izstrādē. Inficēšanās ar Ņūkāslas slimības vīrusu (NDV) - vīrusu ar onkolītiskām un imūnstimulējošām īpašībām - parādīja, ka SK-MEL-29.1 var efektīvi inficēties ar NDV pat pēc gamma apstarošanas, padarot to par piemērotu kandidātu dzīvu vēža vakcīnu izstrādei. Šāda inficēšanās uzlabo audzēja šūnu imunogenitāti, izraisot spēcīgāku pretvēža imūno reakciju, kas vēl vairāk pamato SK-MEL-29.1 izmantošanu vakcīnu pētniecībā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Āda
Disease	Melanoma

Raksturojums

Age	19 gadi
Gender	Vīrieši
Morphology	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	SK-MEL-29.1 (Cytion kataloga numurs 300429)

SK-MEL-29.1 šūnas | 300429

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY54

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

SK-MEL-29.1 šūnas | 300429

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

SK-MEL-29.1 šūnas | 300429

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.