

Células SK-MEL-29.1 | 300429**Informações gerais****Description**

A SK-MEL-29.1 é uma linha de células de melanoma que tem sido extensivamente estudada pelas suas interações com o sistema imunitário, particularmente no contexto do reconhecimento de linfócitos T citotóxicos (CTL). Este subclone da linha de melanoma SK-MEL-29 tem sido utilizado na investigação imunológica para definir antígenos específicos reconhecidos por CTLs autólogos. Estes CTLs visam seletivamente as células de melanoma que expressam determinados antígenos, poupando as células não cancerosas. Em experiências de imunoselecção, verificou-se que o SK-MEL-29.1 exprime antígenos estáveis que são importantes para a lise específica de células de melanoma por CTLs, fornecendo informações sobre a imunogenicidade do tumor e a evasão imunitária.

Um dos principais estudos que envolveu a SK-MEL-29.1 demonstrou a sua utilidade na investigação da imunoterapia contra o cancro. Foi demonstrado que os clones CTL derivados de AV de doentes têm como alvo eficaz as células SK-MEL-29.1, que expressam múltiplos antígenos simultaneamente. Isto torna a SK-MEL-29.1 um modelo importante para compreender como as respostas imunitárias podem ser adaptadas para atingir antígenos específicos no melanoma. A capacidade destes clones CTL para identificar e lisar células de melanoma fornece informações valiosas para o desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas, incluindo a possibilidade de gerar vacinas personalizadas contra o cancro.

Além disso, as células SK-MEL-29.1 foram também testadas no desenvolvimento de vacinas contra o cancro baseadas em vírus. A infeção com o vírus da doença de Newcastle (NDV), um vírus com propriedades oncolíticas e imunoestimuladoras, demonstrou que as células SK-MEL-29.1 podem ser eficazmente infectadas pelo NDV mesmo após irradiação gama, o que as torna um candidato adequado para o desenvolvimento de vacinas vivas contra o cancro. Esta infeção aumenta a imunogenicidade das células tumorais, conduzindo a uma resposta imunitária antitumoral mais robusta, apoiando ainda mais a utilização do SK-MEL-29.1 na investigação de vacinas.

Organism Humano**Tissue** Pele**Disease** Melanoma**Caraterísticas****Age** 19 anos**Gender** Masculino**Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente

Células SK-MEL-29.1 | 300429**Dados regulamentares**

Citation	SK-MEL-29.1 (número de catálogo Cytion 300429)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_IY54

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células SK-MEL-29.1 | 300429

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células SK-MEL-29.1 | 300429

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.