

**Bunky SK-MEL-29.1 | 300429****Všeobecné informácie****Description**

SK-MEL-29.1 je melanómová bunková línia, ktorá sa podrobne skúmala z hľadiska interakcií s imunitným systémom, najmä v súvislosti s rozpoznávaním cytotoxických T-lymfocytov (CTL). Tento subklon melanómovej línie SK-MEL-29 sa používa v imunologickom výskume na definovanie špecifických antigénov rozpoznávaných autológnyimi CTL. Tieto CTL sa selektívne zameriavajú na melanómové bunky exprimujúce určité antigény, pričom šetria nenádorové bunky. V imunoselekčných experimentoch sa zistilo, že SK-MEL-29.1 exprimuje stabilné antigény, ktoré sú dôležité pre špecifickú lýzu melanómových buniek CTL, čo poskytuje poznatky o imunogénnosti nádorov a imunitnom úniku.

Jedna z kľúčových štúdií zahŕňajúcich SK-MEL-29.1 preukázala jeho užitočnosť vo výskume imunoterapie rakoviny. Ukázalo sa, že klony CTL odvodené z AV pacientov účinne zasahujú bunky SK-MEL-29.1, ktoré exprimujú viacero antigénov súčasne. Vďaka tomu je SK-MEL-29.1 dôležitým modelom na pochopenie toho, ako možno imunitné reakcie prispôbiť na cielenie na špecifické antigény v melanóme. Schopnosť týchto klonov CTL identifikovať a lyzovať melanómové bunky poskytuje cenné informácie pre vývoj imunoterapeutických stratégií vrátane možnosti vytvárania personalizovaných vakcín proti rakovine.

Okrem toho sa bunky SK-MEL-29.1 testovali aj pri vývoji vakcín proti rakovine na báze vírusov. Infikovanie vírusom Newcastlekej choroby (NDV), vírusom s onkolytickými a imunostimulačnými vlastnosťami, preukázalo, že SK-MEL-29.1 sa môže účinne infikovať NDV aj po ožiarení gama žiarením, čo z neho robí vhodného kandidáta na vývoj živých vakcín proti rakovine. Táto infekcia zvyšuje imunogénnosť nádorových buniek, čo vedie k silnejšej protinádorovej imunitnej odpovedi, čo ďalej podporuje použitie SK-MEL-29.1 vo výskume vakcín.

**Organism** Ľudské**Tissue** Koža**Disease** Melanóm**Charakteristika****Age** 19 rokov**Gender** Muži**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** SK-MEL-29.1 (katalógové číslo Cytion 300429)

**Bunky SK-MEL-29.1 | 300429****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_IY54**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Bunky SK-MEL-29.1 | 300429****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Bunky SK-MEL-29.1 | 300429**

**Storage  
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**

**Sterility**

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.