

MALME-3M rakud | 305583**Üldine teave****Description**

MALME-3M rakuliin on inimese melanoomi mudel, mida kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes melanoomi progresseerumise, immuunsüsteemi vältimise ja ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks. See rakuliin on saadud metastaatilise melanoomi kahjustusest ja näitab mitmeid agressiivse melanoomiga seotud omadusi, sealhulgas võimet ekspresseerida olulisi onkogeenseid markereid, nagu HER2, ning rolli kasvaja mikrokeskkonda mõjutamisel. MALME-3M-i hõlmavad uuringud on toonud esile selle vastuvõtlikkuse sihtterapiatele, nagu HER2-le suunatud bispetsiifilised antikehad, ning selle kasutamise T-rakkude vahendatud immunoteraapiate hindamisel.

Üks oluline MALME-3M-rakke hõlmav uurimisvaldkond on nende kasulikkus melanoomi immuunsüsteemist kõrvalehoidmise mehhanismide uurimisel. Näiteks võimaldavad MALME-3M-i ja immuunrakkude paaris kasvatamise süsteemid teadlastel uurida, kuidas melanoomi rakud moduleerivad immuunvastuseid selliste signaaliteede kaudu nagu PD-1/PD-L1 ja muud immuunkontrollpunkti inhibiitorid. Seda rakuliini on ka geneetiliselt modifitseeritud, et uurida geenihäirete mõju immuuninteraktsioonidele, mis teeb sellest väärtusliku vahendi suure läbilaskevõimega geneetiliseks sõelumiseks.

Lisaks rollile immunoloogilistes uuringutes on MALME-3M rakud olulised kasvuhormooni (GH) mõju uurimisel melanoomi progresseerumisele. Uuringud on näidanud, et GH võib suurendada ravimresistentsust ja metastaaside tekkimise potentsiaali MALME-3M rakkudes, muutes melanoomist pärinevate eksosomide koostist. Need eksosomid võivad kanda ravimresistentsust ja rändamist soodustavaid tegureid üle teistele rakkudele kasvaja mikrokeskkonnas. Sellised uuringud rõhutavad GH signaaliteede sihtimise potentsiaali terapeutilise strateegiana melanoomi kemoresistentsuse ületamiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Nahk

Disease

Melanoom

Metastatic site

Kopsud

Synonyms

Malme-3M, MALME 3M, Malme-3 M, MALME.3M, Malme3M, MALME3M, Malme-3 ühekihiline

Omadused**Age**

43 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Fibroblastilaadsed

MALME-3M rakud | 305583**Cell type** Fibroblastide**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** MALME-3M (Cytioni katalooginumber 305583)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1438**Biomolekulaarsed andmed****Antigen expression** HLA A2, Aw30, B13, B40(+/-), DRw7**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel**Töötlemine****Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/L glükoos, w: 4 mM L-glutamiin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 3,024 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820800a)**Supplements** Täiendada keskkonda 20% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult TrypLE Expressiga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeeruda 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 3×10^4 rakku/cm²

MALME-3M rakud | 305583**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.**Flask Coating**

Puudub

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MALME-3M rakud | 305583

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.