

Komórki MALME-3M | 305583**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa MALME-3M stanowi model ludzkiego czerniaka, szeroko stosowany w badaniach nad rakiem w celu analizy mechanizmów progresji czerniaka, unikania odpowiedzi immunologicznej oraz oporności na leki. Linia ta pochodzi z ogniska czerniaka z przerzutami i wykazuje szereg cech charakterystycznych dla czerniaka o agresywnym przebiegu, w tym zdolność do ekspresji kluczowych markerów onkogennych, takich jak HER2, oraz rolę w modulowaniu mikrośrodowiska nowotworowego. Badania z wykorzystaniem linii MALME-3M podkreśliły jej wrażliwość na terapie celowane, takie jak przeciwciała bispecyficzne skierowane przeciwko HER2, oraz jej przydatność w ocenie immunoterapii opartych na komórkach T.

Jednym z istotnych obszarów badań dotyczących komórek MALME-3M jest ich przydatność w badaniu mechanizmów unikania odpowiedzi immunologicznej w czerniaku. Na przykład systemy współhodowli łączące MALME-3M z komórkami odpornościowymi pozwalają badaczom zbadać, w jaki sposób komórki czerniaka modulują odpowiedzi immunologiczne poprzez szlaki takie jak PD-1/PD-L1 i inne inhibitory punktów kontrolnych układu odpornościowego. Linia komórkowa ta została również zmodyfikowana genetycznie w celu zbadania wpływu zaburzeń genetycznych na interakcje immunologiczne, co czyni ją cennym narzędziem do wysokoprzepustowego badania genetycznego.

Oprócz roli w badaniach immunologicznych komórki MALME-3M odgrywają kluczową rolę w badaniu wpływu hormonu wzrostu (GH) na progresję czerniaka. Badania wykazały, że GH może zwiększać oporność na leki i potencjał przerzutowy w komórkach MALME-3M poprzez zmianę składu egzosomów pochodzących z czerniaka. Egzosomy te mogą przenosić czynniki sprzyjające oporności na leki i migracji do innych komórek w mikrośrodowisku guza. Badania te podkreślają potencjał ukierunkowania na szlaki sygnałowe GH jako strategii terapeutycznej mającej na celu przezwycięzenie oporności czerniaka na chemioterapię.

Organism Człowiek**Tissue** Skóra**Disease** Czerniak**Metastatic site** Płuco**Synonyms** Malme-3M, MALME 3M, Malme-3 M, MALME.3M, Malme3M, MALME3M, Malme-3 Monolayer**Charakterystyka****Age** 43 lata**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do fibroblastów

Komórki MALME-3M | 305583**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** MALME-3M (numer katalogowy Cytion 305583)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1438**Dane biomolekularne****Antigen expression** HLA A2, Aw30, B13, B40 (+/-), DRw7**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Obsługa****Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 3,024 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820800a)**Supplements** Uzupelnic podloze 20% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki preparatem TrypLE Express, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut w celu ich odłączenia. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Seeding density** 3×10^4 komórek/cm²

Komórki MALME-3M | 305583**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating**

Brak

Komórki MALME-3M | 305583

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.