

Клетки MML-1 | 300288

Обща информация

Description

Клетъчната линия MML-1 е меланомна клетъчна линия, получена от малигнен меланом. Тази клетъчна линия се използва главно за изследване на биологията на меланома, по-специално ролята на извънклетъчните везикули (EV) в комуникацията между клетките и прогресията на тумора. Клетките MML-1 освобождават различни подтипове EVs, включително екзозоми, микровезикули и апоптотични тела, всяко от които носи различни РНК товари, като микроРНК (miRNA) и други некодиращи РНК.

Проучванията, в които са използвани клетки MML-1, показват, че екзозомите, освободени от тези клетки, съдържат специфични миРНК, като miR-214-3p, miR-199a-3p и miR-155-5p, които са тясно свързани с прогресията и метастазирането на меланома. Тези миРНК са обогатени в екзозомите в сравнение с други типове EV и са свързани с важни пътища, свързани с меланома, като регулиране на MAPK сигналния път и взаимодействието с туморната микросреда. Интересно е, че сравненията на профилите на миРНК от екзозоми, получени от MML-1, с клинични проби от меланом показват значително припокриване, което показва клиничното значение на този клетъчен модел за разбирането на прогресията на меланома.

В допълнение към miRNA клетките MML-1 освобождават и други некодиращи РНК, като малки ядрени РНК (snRNA) и митохондриално-асоциирани трансферни РНК (mt-RNA), които са различно разпределени сред подтиповете EV. Тези констатации подчертават полезността на клетъчната линия MML-1 за изучаване на молекулярните механизми на меланома, по-специално как туморните клетки комуникират чрез EV и влияят върху микросредата си.

Organism Човек

Tissue Кожа

Disease Меланома

Synonyms MML1

Характеристики

Age Неуточнено

Gender Неуточнено

Morphology Подобни на епител

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки MML-1 | 300288

Citation MML-1 (каталожен номер 300288 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6004

Биомолекулярни данни

Protein expression P53 положителен

Tumorigenic Да, при голи мишки

Reverse transcriptase Отрицателен

Mutational profile Мутацията на BRAF тип V600E е определена чрез ДНК методи (секвениране, RT-PCR) и протеинови методи (Western Blot).

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Клетки MML-1 | 300288

Post-Thaw Recovery

След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/ cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^\circ\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^\circ\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки MML-1 | 300288

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.