

Κύτταρα MML-1 | 300288

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά MML-1 είναι μια κυτταρική σειρά μελανώματος που προέρχεται από κακόηθες μελάνωμα. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται κυρίως για τη μελέτη της βιολογίας του μελανώματος, ιδίως του ρόλου των εξωκυτταρικών κυστιδίων (EVs) στην επικοινωνία μεταξύ κυττάρων και στην εξέλιξη του όγκου. Τα κύτταρα MML-1 απελευθερώνουν διάφορους υποτύπους EVs, συμπεριλαμβανομένων των εξωσωμάτων, των μικροκυψελίδων και των αποπτωτικών σωμάτων, καθένα από τα οποία μεταφέρει διακριτά φορτία RNA, όπως microRNAs (miRNAs) και άλλα μη κωδικοποιητικά RNAs.

Μελέτες που χρησιμοποίησαν κύτταρα MML-1 έδειξαν ότι τα εξωσώματα που απελευθερώνονται από αυτά τα κύτταρα περιέχουν συγκεκριμένα miRNAs όπως τα miR-214-3p, miR-199a-3p και miR-155-5p, τα οποία συνδέονται στενά με την εξέλιξη και τη μετάσταση του μελανώματος. Αυτά τα miRNAs είναι εμπλουτισμένα στα εξωσώματα σε σύγκριση με άλλους τύπους EV και έχουν συνδεθεί με σημαντικά μονοπάτια που σχετίζονται με το μελάνωμα, όπως η ρύθμιση του σηματοδοτικού μονοπατιού MAPK και οι αλληλεπιδράσεις του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Είναι ενδιαφέρον ότι οι συγκρίσεις των προφίλ miRNA από εξωσώματα που προέρχονται από το MML-1 με κλινικά δείγματα μελανώματος παρουσιάζουν σημαντική επικάλυψη, υποδεικνύοντας την κλινική σημασία αυτού του κυτταρικού μοντέλου για την κατανόηση της εξέλιξης του μελανώματος.

Εκτός από τα miRNAs, τα κύτταρα MML-1 απελευθερώνουν και άλλα μη κωδικοποιητικά RNAs, όπως μικρά πυρηνικά RNAs (snoRNAs) και μιτοχονδριακά transfer RNAs (mt-RNAs), τα οποία κατανέμονται διαφορετικά μεταξύ των υποτύπων EV. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν τη χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς MML-1 για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών του μελανώματος, ιδίως του τρόπου με τον οποίο τα καρκινικά κύτταρα επικοινωνούν μέσω EVs και επηρεάζουν το μικροπεριβάλλον τους.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Δέρμα

Disease Μελάνωμα

Synonyms MML1

Χαρακτηριστικά

Age Απροσδιόριστο

Gender Απροσδιόριστο

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Προσκολλημένο

Κύτταρα MML-1 | 300288

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	MML-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300288)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6004

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	P53 θετικό
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια
Reverse transcriptase	Αρνητικό
Mutational profile	Η μετάλλαξη BRAF τύπου V600E προσδιορίστηκε με μεθόδους που βασίζονται στο DNA (αλληλούχιση, RT-PCR) και με μεθόδους που βασίζονται στις πρωτεΐνες (Western Blot).

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα MML-1 | 300288**Seeding density** 1 x 10⁴ κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Post-Thaw Recovery** Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10⁴ κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.**Freeze medium** Ως μέσο κρυσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσυντήρηση.**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα MML-1 | 300288

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating Κανένα

Freezing Procedure Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.