

MML-1-solut | 300288

Yleisiä tietoja

Description

MML-1-solulinja on pahanlaatuisesta melanoomasta peräisin oleva melanoomasolulinja. Tätä solulinjaa käytetään ensisijaisesti melanooman biologian tutkimiseen, erityisesti solunulkoisten vesikkelien (EV) roolin tutkimiseen solujen välisessä viestinnässä ja kasvaimen etenemisessä. MML-1-solut vapauttavat erilaisia EV:n alatyyppejä, kuten eksosomeja, mikrovessikkeleitä ja apoptoottisia elimiä, joista kukin kuljettaa erilaista RNA-kuormaa, kuten mikroRNA:ita (miRNA) ja muita ei-koodaavia RNA:ita.

MML-1-soluilla tehdyt tutkimukset ovat osoittaneet, että näistä soluista vapautuvat eksosomit sisältävät erityisiä miRNA:ita, kuten miR-214-3p, miR-199a-3p ja miR-155-5p, jotka liittyvät läheisesti melanooman etenemiseen ja metastaasiin. Nämä miRNA:t rikastuvat eksosomeissa muihin EV-tyyppeihin verrattuna, ja ne on yhdistetty tärkeisiin melanoomaan liittyviin reitteihin, kuten MAPK-signaalintireitin säätelyyn ja kasvaimen mikroympäristön vuorovaikutukseen. Mielenkiintoista on, että MML-1:stä peräisin olevien eksosomien ja kliinisten melanoomanäytteiden miRNA-profiilien vertailu osoittaa merkittävää päällekkäisyyttä, mikä osoittaa tämän solumallin kliinisen merkityksen melanooman etenemisen ymmärtämisessä.

MML-1-solut vapauttavat miRNA:iden lisäksi myös muita ei-koodaavia RNA:ita, kuten pieniä nukleolaarisia RNA:ita (snoRNA:ita) ja mitokondrioihin assosioituneita siirtorNA:ita (mt-RNA:ita), jotka jakautuvat eri tavoin EV-alatyyppeiden kesken. Nämä havainnot korostavat MML-1-solulinjan hyödyllisyyttä melanooman molekyylimekanismien tutkimisessa, erityisesti siinä, miten kasvainsolut kommunikoivat EV:iden välityksellä ja vaikuttavat mikroympäristöönsä.

Organism	Ihminen
----------	---------

Tissue	Iho
--------	-----

Disease	Melanooma
---------	-----------

Synonyms	MML1
----------	------

Ominaisuudet

Age	Määrittelemätön
-----	-----------------

Gender	Määrittelemätön
--------	-----------------

Morphology	Epiteelin kaltainen
------------	---------------------

Growth properties	Tarttuva
-------------------	----------

Säätelytiedot

MML-1-solut | 300288

Citation MML-1 (Cytionin luettelonumero 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004

Biomolekyylitiedot

Protein expression P53-positiivinen**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä**Reverse transcriptase** Negatiivinen**Mutational profile** V600E-tyyppinen BRAF-mutaatio määritettiin DNA-pohjaisilla menetelmillä (sekvensointi, RT-PCR) ja proteiinipohjaisilla menetelmillä (Western Blot).

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 1×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

MML-1-solut | 300288

Post-Thaw Recovery

Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

MML-1-solut | 300288

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.