

MML-1 sejtek | 300288

Általános információk

Description

Az MML-1 sejtvonal egy rosszindulatú melanomából származó melanoma sejtvonal. Ezt a sejtvonalat elsősorban a melanoma biológiájának tanulmányozására használják, különös tekintettel az extracelluláris vezikulák (EV-k) szerepére a sejtek közötti kommunikációban és a tumor progressziójában. Az MML-1 sejtek az EV-k különböző altípusait bocsátják ki, beleértve az exoszómákat, mikrovezikulákat és apoptotikus testeket, amelyek mindegyike különböző RNS-anyagokat, például mikroRNS-eket (miRNS-eket) és más nem kódoló RNS-eket hordoz.

MML-1 sejtekkel végzett vizsgálatok kimutatták, hogy az e sejtekből felszabaduló exoszómák olyan specifikus miRNS-eket tartalmaznak, mint a miR-214-3p, a miR-199a-3p és a miR-155-5p, amelyek szoros kapcsolatban állnak a melanoma progressziójával és metasztázisával. Ezek a miRNS-ek más EV-típusokhoz képest az exoszómákban gazdagodnak, és olyan fontos melanomával kapcsolatos útvonalakhoz kapcsolódnak, mint a MAPK jelátviteli útvonal szabályozása és a tumoros mikrokönyezet kölcsönhatásai. Érdekes módon az MML-1-ből származó exoszómákból származó miRNS-profilok és a melanoma klinikai mintáinak összehasonlítása jelentős átfedést mutat, ami jelzi e sejtmodell klinikai jelentőségét a melanoma progressziójának megértésében.

A miRNS-ek mellett az MML-1 sejtek más nem kódoló RNS-eket is felszabadítanak, mint például a kis nukleoláris RNS-ek (snoRNS-ek) és a mitokondriumokhoz kapcsolódó transzfer RNS-ek (mt-RNS-ek), amelyek differenciáltan oszlanak el az EV altípusok között. Ezek az eredmények rávilágítanak az MML-1 sejtvonal hasznosságára a melanoma molekuláris mechanizmusainak tanulmányozásában, különösen arra, hogy a tumorsejtek hogyan kommunikálnak az EV-ken keresztül és hogyan befolyásolják mikrokoznyezetüket.

Organism Emberi

Tissue Bőr

Disease Melanoma

Synonyms MML1

Jellemzők

Age Meghatározatlan

Gender Meghatározatlan

Morphology Epithelszerű

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

MML-1 sejtek | 300288

Citation MML-1 (Cytion katalógusszám: 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004

Biomolekuláris adatok

Protein expression P53 pozitív**Tumorigenic** Igen, meztelen egerekben**Reverse transcriptase** Negatív**Mutational profile** A V600E típusú BRAF-mutációt DNS-alapú módszerekkel (szekvenálás, RT-PCR) és fehérjealapú módszerekkel (Western Blot) határozták meg.

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 1×10^4 sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

MML-1 sejtek | 300288**Post-Thaw Recovery**

Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

MML-1 sejtek | 300288

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.