

## MML-1 ląstelės | 300288

## Bendra informacija

## Description

MML-1 ląstelių linija yra melanomos ląstelių linija, gauta iš piktybinės melanomos. Ši ląstelių linija pirmiausia naudojama melanomos biologijai tirti, ypač ekstraląstelių vezikulių (EV) vaidmeniui ląstelių tarpusavio ryšyje ir naviko progresavime. MML-1 ląstelės išskiria įvairių potipių EV, įskaitant egzomasas, mikrovezikules ir apoptozinius kūnelius, kurių kiekviename yra skirtingi RNR kroviniai, pavyzdžiui, mikro RNR (miRNA) ir kitos nekoduojančios RNR.

Tyrimai, atlikti naudojant MML-1 ląsteles, parodė, kad iš šių ląstelių išsiskiriančiose egzomosose yra specifinių miRNA, tokių kaip miR-214-3p, miR-199a-3p ir miR-155-5p, kurios yra glaudžiai susijusios su melanomos progresavimu ir metastazėmis. Šių miRNA yra daugiau egzomosose, palyginti su kitų tipų EV, ir jos yra susijusios su svarbiais su melanoma susijusiais keliais, tokiais kaip MAPK signalinio kelio reguliavimas ir naviko mikroaplinkos sąveika. Įdomu tai, kad lyginant MML-1 išvestų egzomų miRNA profilius su klinikiniais melanomos mėginiais, jie labai sutampa, o tai rodo šio ląstelių modelio klinikinę reikšmę melanomos progresavimo supratimui.

MML-1 ląstelės išskiria ne tik miRNA, bet ir kitas nekoduojančias RNR, pavyzdžiui, mažąsias branduolio RNR (snoRNA) ir su mitochondrijais susijusias transferines RNR (mt-RNA), kurios skirtingai pasiskirsto tarp EV potipių. Šios išvados rodo, kad MML-1 ląstelių linija yra naudinga tiriant melanomos molekulinis mechanizmus, ypač tai, kaip naviko ląstelės bendrauja per EV ir daro įtaką savo mikroaplinkai.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Odos

**Disease** Melanoma

**Synonyms** MML1

## Charakteristikos

**Age** Nenustatyta

**Gender** Nenustatyta

**Morphology** Į epitelį panašus

**Growth properties** Prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** MML-1 (Cytion katalogo numeris 300288)

## MML-1 ląstelės | 300288

Biosafety level 1

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_6004

## Biomolekuliniai duomenys

Protein expression P53 teigiamas

Tumorigenic Taip, su nuogomis pelėmis

Reverse transcriptase Neigiamas

Mutational profile V600E tipo BRAF mutacija buvo nustatyta DNR metodais (sekos nustatymas, RT-PCR) ir baltymų metodais (Western Blot).

## Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigausti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

**MML-1 ląstelės | 300288****Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## MML-1 ląstelės | 300288

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150$ - $196^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.