

MML-1 šūnas | 300288

Vispārīga informācija

Description

MML-1 šūnu līnija ir melanomas šūnu līnija, kas iegūta no ļaundabīgas melanomas. Šo šūnu līniju galvenokārt izmanto melanomas bioloģijas izpētei, jo īpaši ekstracelulāro vezikulu (EV) lomai šūnu savstarpējā saziņā un audzēja progresēšanā. MML-1 šūnas izdala dažādus EV apakštipus, tostarp eksosomas, mikrovesikulas un apoptozes ķermenīšus, no kuriem katrs satur atšķirīgu RNS, piemēram, mikroRNS (miRNS) un citas nekodējošas RNS.

Pētījumos, kuros izmantotas MML-1 šūnas, ir pierādīts, ka no šīm šūnām izdalītās eksosomas satur specifiskas miRNS, piemēram, miR-214-3p, miR-199a-3p un miR-155-5p, kas ir cieši saistītas ar melanomas progresēšanu un metastāzēm. Šo miRNS saturs eksosomās ir bagātināts salīdzinājumā ar citiem EV tipiem, un tās ir saistītas ar svarīgiem ar melanomu saistītiem ceļiem, piemēram, MAPK signalizācijas ceļa regulāciju un audzēja mikrovides mijiedarbību. Interesanti, ka, salīdzinot MML-1 iegūtu eksosomu miRNS profilus ar melanomas klīniskajiem paraugiem, konstatēta būtiska pārklāšanās, kas norāda uz šī šūnu modeļa klīnisko nozīmi melanomas progresēšanas izpratnē.

Papildus miRNS MML-1 šūnas izdala arī citas nekodējošas RNS, piemēram, mazās nukleolārās RNS (snoRNS) un ar mitohondrijiem saistītās transfēra RNS (mt-RNS), kas ir atšķirīgi sadalītas starp EV apakštipiem. Šie atklājumi uzsvēr MML-1 šūnu līnijas lietderību melanomas molekulāro mehānismu izpētē, jo īpaši to, kā audzēja šūnas sazinās ar EV un ietekmē savu mikrovidi.

Organism Cilvēks

Tissue Āda

Disease Melanoma

Synonyms MML1

Raksturojums

Age Nav norādīts

Gender Nav norādīts

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation MML-1 (Cytion kataloga numurs 300288)

MML-1 šūnas | 300288

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6004

Biomolekulārie dati

Protein expression	P53 pozitīvs
Tumorigenic	Jā, kailām pelēm
Reverse transcriptase	Negatīvs
Mutational profile	V600E tipa BRAF mutāciju noteica ar DNS metodēm (sekvenēšana, RT-PCR) un olbaltumvielu metodēm (Western Blot).

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

MML-1 šūnas | 300288**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MML-1 šūnas | 300288

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.