

Komórki MML-1 | 300288

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa MML-1 to linia komórkowa czerniaka pochodząca z czerniaka złośliwego. Ta linia komórkowa jest wykorzystywana głównie do badania biologii czerniaka, w szczególności roli pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EV) w komunikacji między komórkami i progresji nowotworu. Komórki MML-1 uwalniają różne podtypy EV, w tym egzosomy, mikropęcherzyki i ciała apoptotyczne, z których każdy przenosi różne ładunki RNA, takie jak mikroRNA (miRNA) i inne niekodujące RNA.

Badania z wykorzystaniem komórek MML-1 wykazały, że egzosomy uwalniane z tych komórek zawierają specyficzne miRNA, takie jak miR-214-3p, miR-199a-3p i miR-155-5p, które są ściśle związane z progresją czerniaka i przerzutami. Te miRNA są wzbogacone w egzosomy w porównaniu do innych typów EV i zostały powiązane z ważnymi szlakami związanymi z czerniakiem, takimi jak regulacja szlaku sygnałowego MAPK i interakcje mikrośrodowiska guza. Co ciekawe, porównania profili miRNA z egzosomów pochodzących z MML-1 z próbkami klinicznymi czerniaka wykazują znaczne nakładanie się, co wskazuje na kliniczne znaczenie tego modelu komórkowego w zrozumieniu progresji czerniaka.

Oprócz miRNA, komórki MML-1 uwalniają również inne niekodujące RNA, takie jak małe jąderkowe RNA (snoRNA) i związane z mitochondriami transferowe RNA (mt-RNA), które są różnie rozmieszczone wśród podtypów EV. Odkrycia te podkreślają użyteczność linii komórkowej MML-1 w badaniu molekularnych mechanizmów czerniaka, w szczególności tego, jak komórki nowotworowe komunikują się za pośrednictwem EV i wpływają na swoje mikrośrodowisko.

Organism Człowiek

Tissue Skóra

Disease Czerniak

Synonyms MML1

Charakterystyka

Age Nieokreślony

Gender Nieokreślony

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Komórki MML-1 | 300288**Citation** MML-1 (numer katalogowy Cytion 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004**Dane biomolekularne****Protein expression** P53 dodatni**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Reverse transcriptase** Negatywny**Mutational profile** Mutację BRAF typu V600E określono metodami opartymi na DNA (sekwencjonowanie, RT-PCR) i metodami opartymi na białkach (Western Blot).**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:5**Seeding density** 1×10^4 kom^{órek}/cm²

Komórki MML-1 | 300288**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki MML-1 | 300288

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

CSF1PO: 10
D13S317: 8,13
D16S539: 10,11
D5S818: 10,12
D7S820: 10,12
TH01: 6,10
TPOX: 11
vWA: 17,18
D3S1358: 17
D21S11: 31
D18S51: 13,14
Penta E: 7,11
Penta D: 14
D8S1179: 13,14
FGA: 23
PEZ6: MOLT-4