

Celule MML-1 | 300288

Informații generale

Description

Linia celulară MML-1 este o linie celulară de melanom derivată din melanom malign. Această linie celulară este utilizată în principal pentru a studia biologia melanomului, în special rolul veziculelor extracelulare (EV) în comunicarea de la celulă la celulă și în progresia tumorală. Celulele MML-1 eliberează diferite subtipuri de EV-uri, inclusiv exosomi, microvezicule și corpuri apoptotice, fiecare purtând încărcături ARN distincte, cum ar fi microARN-uri (miARN-uri) și alte ARN-uri necodante.

Studiile efectuate cu ajutorul celulelor MML-1 au demonstrat că exozomii eliberați de aceste celule conțin miARN-uri specifice precum miR-214-3p, miR-199a-3p și miR-155-5p, care sunt strâns asociate cu progresia și metastaza melanomului. Aceste miARN-uri sunt îmbogățite în exozomi în comparație cu alte tipuri de EV și au fost legate de căi importante legate de melanom, cum ar fi reglarea căii de semnalizare MAPK și interacțiunile micro-mediului tumoral. În mod interesant, comparațiile profilurilor miARN din exozomii derivați din MML-1 cu probele clinice de melanom arată o suprapunere semnificativă, indicând relevanța clinică a acestui model celular în înțelegerea progresiei melanomului.

În plus față de miARN-uri, celulele MML-1 eliberează, de asemenea, alte ARN-uri necodificatoare, cum ar fi ARN-urile nucleolare mici (snoARN-uri) și ARN-urile de transfer asociate mitocondriilor (mt-RNA-uri), care sunt distribuite diferențiat între subtipurile EV. Aceste constatări evidențiază utilitatea liniei celulare MML-1 în studiul mecanismelor moleculare ale melanomului, în special modul în care celulele tumorale comunică prin intermediul EV-urilor și influențează micro-mediul lor.

Organism Om

Tissue Piele

Disease Melanom

Synonyms MML1

Caracteristici

Age Nespecificat

Gender Nespecificat

Morphology De tip epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Celule MML-1 | 300288

Citation MML-1 (număr de catalog Cytion 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004

Date biomoleculare

Protein expression P53 pozitiv**Tumorigenic** Da, la șoareci nude**Reverse transcriptase** Negativ**Mutational profile** Mutația BRAF de tip V600E a fost determinată prin metode bazate pe ADN (secvențiere, RT-PCR) și metode bazate pe proteine (Western Blot).

Manipulare

Culture Medium RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820700a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 1×10^4 celule/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână

Celule MML-1 | 300288

Post-Thaw Recovery După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Flask Coating Niciuna

Celule MML-1 | 300288

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.