

MML-1 Hücreleri | 300288

Genel bilgi

Description

MML-1 hücre hattı, malign melanomdan türetilmiş bir melanom hücre hattıdır. Bu hücre hattı öncelikle melanom biyolojisini, özellikle de hücre dışı veziküllerin (EV'ler) hücreler arası iletişim ve tümör ilerlemesindeki rolünü incelemek için kullanılır. MML-1 hücreleri, her biri mikroRNA'lar (miRNA'lar) ve diğer kodlamayan RNA'lar gibi farklı RNA kargoları taşıyan eksozomlar, mikroveziküller ve apoptotik cisimler dahil olmak üzere çeşitli EV alt türlerini salgılar.

MML-1 hücreleri kullanılarak yapılan çalışmalar, bu hücrelerden salınan eksozomların melanom ilerlemesi ve metastazı ile yakından ilişkili olan miR-214-3p, miR-199a-3p ve miR-155-5p gibi spesifik miRNA'lar içerdiğini göstermiştir. Bu miRNA'lar diğer EV türlerine kıyasla eksozomlarda zenginleştirilmiştir ve MAPK sinyal yolunun düzenlenmesi ve tümör mikroçevre etkileşimleri gibi melanomla ilgili önemli yollarla ilişkilendirilmiştir. İlginç bir şekilde, MML-1 türevli eksozomlardan elde edilen miRNA profillerinin klinik melanom örnekleriyle karşılaştırılması önemli bir örtüşme göstererek bu hücre modelinin melanom ilerlemesini anlamadaki klinik önemini ortaya koymaktadır.

MiRNA'lara ek olarak, MML-1 hücreleri, EV alt tipleri arasında farklı şekilde dağılmış olan küçük nükleolar RNA'lar (snoRNA'lar) ve mitokondriyal ilişkili transfer RNA'lar (mt-RNA'lar) gibi diğer kodlamayan RNA'ları da salmaktadır. Bu bulgular, MML-1 hücre hattının melanomun moleküler mekanizmalarını, özellikle de tümör hücrelerinin EV'ler aracılığıyla nasıl iletişim kurduğunu ve mikro çevrelerini nasıl etkilediğini incelemadaki faydasını vurgulamaktadır.

Organism İnsan

Tissue Cilt

Disease Melanom

Synonyms MML1

Özellikler

Age Belirtilmemiş

Gender Belirtilmemiş

Morphology Epitel benzeri

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

MML-1 Hücreleri | 300288**Citation** MML-1 (Cytion katalog numarası 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** P53 pozitif**Tumorigenic** Evet, çıplak farelerde**Reverse transcriptase** Negatif**Mutational profile** V600E tipi BRAF Mutasyonu DNA bazlı yöntemler (sekanslama, RT-PCR) ve protein bazlı yöntemler (Western Blot) ile belirlenmiştir.**Elleçleme****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspense etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspense edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 1×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez

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

Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2} nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Product sheet

MML-1 Hücreleri | 300288

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.