

Клітини MML-1 | 300288

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія MML-1 - це лінія клітин меланоми, отримана зі злоякісної меланоми. Ця клітинна лінія використовується в основному для вивчення біології меланоми, зокрема ролі позаклітинних везикул (ЕВ) у міжклітинній комунікації та прогресії пухлини. Клітини MML-1 вивільняють різні підтипи ЕВ, включаючи екзосоми, мікровезикули та апоптотичні тільця, кожен з яких несе окремі РНК-вантажі, такі як мікроРНК (міРНК) та інші некодуючі РНК.

Дослідження на клітинах MML-1 показали, що екзосоми, які вивільняються з цих клітин, містять специфічні мікроРНК, такі як miR-214-3p, miR-199a-3p і miR-155-5p, які тісно пов'язані з прогресуванням і метастазуванням меланоми. Ці міРНК збагачені в екзосомах порівняно з іншими типами ЕВ і пов'язані з важливими шляхами, пов'язаними з меланою, такими як регуляція сигнального шляху MAPK і взаємодія з пухлинним мікрооточенням. Цікаво, що порівняння профілів міРНК з екзосом, отриманих з MML-1, з клінічними зразками меланоми демонструє значний збіг, що вказує на клінічну значущість цієї клітинної моделі для розуміння прогресування меланоми.

На додаток до міРНК, клітини MML-1 також вивільняють інші некодуючі РНК, такі як малі нуклеоларні РНК (snoRNA) і мітохондріально-асоційовані транспортні РНК (mt-RNA), які диференційовано розподіляються між підтипами EV. Ці результати підкреслюють корисність клітинної лінії MML-1 для вивчення молекулярних механізмів меланоми, зокрема, як пухлинні клітини спілкуються за допомогою ЕВ і впливають на своє мікрооточення.

Organism Людина

Tissue Шкіра

Disease Меланома

Synonyms MML1

Характеристики

Age Не визначено

Gender Не визначено

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Клітини MML-1 | 300288

Citation	MML-1 (номер за каталогом Cytion 300288)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_6004
-----------------------------	-----------

Біомолекулярні дані

Protein expression	P53 позитивний
---------------------------	----------------

Tumorigenic	Так, у голих мишей
--------------------	--------------------

Reverse transcriptase	Негативно
------------------------------	-----------

Mutational profile	Мутацію BRAF типу V600E визначали методами на основі ДНК (секвенування, RT-PCR) та методами на основі білка (Вестерн-блот).
---------------------------	---

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталожним номером 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Аккутаза
-----------------------------	----------

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
---------------------	--

Seeding density	1×10^4 клітин/см ²
------------------------	--

Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
----------------------	---------------------

Клітини MML-1 | 300288

Post-Thaw Recovery

Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини MML-1 | 300288

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.