

Tế bào MML-1 | 300288**Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào MML-1 là một dòng tế bào u hắc tố được phân lập từ u hắc tố ác tính. Dòng tế bào này chủ yếu được sử dụng để nghiên cứu sinh học u hắc tố, đặc biệt là vai trò của các vesicle ngoại bào (EVs) trong giao tiếp tế bào và tiến triển khối u. Tế bào MML-1 giải phóng các loại EVs khác nhau, bao gồm exosomes, microvesicles và apoptotic bodies, mỗi loại mang theo các loại RNA khác nhau, như microRNAs (miRNAs) và các RNA không mã hóa khác.

Các nghiên cứu sử dụng tế bào MML-1 đã chỉ ra rằng các exosomes được giải phóng từ các tế bào này chứa các miRNA cụ thể như miR-214-3p, miR-199a-3p và miR-155-5p, những miRNA này có liên quan chặt chẽ đến sự tiến triển và di căn của ung thư hắc tố. Các miRNA này được tập trung nhiều hơn trong exosomes so với các loại EVs khác và đã được liên kết với các con đường tín hiệu quan trọng liên quan đến melanoma, như điều hòa con đường tín hiệu MAPK và tương tác với môi trường vi mô của khối u. Đáng chú ý, so sánh hồ sơ miRNA từ exosomes được sản xuất từ tế bào MML-1 với mẫu lâm sàng của melanoma cho thấy sự trùng lặp đáng kể, cho thấy tính ứng dụng lâm sàng của mô hình tế bào này trong việc hiểu rõ sự tiến triển của melanoma.

Ngoài miRNA, tế bào MML-1 cũng giải phóng các RNA không mã hóa khác như RNA nhân nhỏ (snoRNA) và RNA chuyển vận liên quan đến ty thể (mt-RNA), được phân bố khác nhau giữa các loại EV. Những phát hiện này nhấn mạnh tính hữu ích của dòng tế bào MML-1 trong việc nghiên cứu các cơ chế phân tử của melanoma, đặc biệt là cách tế bào ung thư giao tiếp qua EVs và ảnh hưởng đến môi trường vi mô của chúng.

Organism Con người

Tissue Da

Disease Ung thư hắc tố

Synonyms MML1

Đặc điểm

Age Không xác định

Gender Không xác định

Morphology Tương tự biểu mô

Growth properties Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation MML-1 (Số catalog Cytion 300288)

Tế bào MML-1 | 300288

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6004

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression P53 dương tính

Tumorigenic Đúng vậy, ở chuột nude

Reverse transcriptase Tiêu cực

Mutational profile Biến thể gen BRAF loại V600E được xác định bằng các phương pháp dựa trên DNA (giải trình tự, RT-PCR) và các phương pháp dựa trên protein (Western Blot).

Xử lý

Culture Medium RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)

Supplements Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Seeding density 1×10^4 tế bào/cm²

Fluid renewal 2 đến 3 lần mỗi tuần

Post-Thaw Recovery Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5×10^4 tế bào/cm² và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.

Tế bào MML-1 | 300288**Freeze medium**

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào MML-1 | 300288

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.