

Buňky MML-1 | 300288**Obecné informace****Description**

Buněčná linie MML-1 je melanomová buněčná linie odvozená z maligního melanomu. Tato buněčná linie se používá především ke studiu biologie melanomu, zejména role extracelulárních vezikul (EV) v komunikaci mezi buňkami a progresi nádoru. Buňky MML-1 uvolňují různé podtypy EV, včetně exozomů, mikrovezikul a apoptotických tělísek, z nichž každé nese odlišné RNA, jako jsou mikroRNA (miRNA) a další nekódující RNA.

Studie využívající buňky MML-1 prokázaly, že exozomy uvolňované z těchto buněk obsahují specifické miRNA, jako jsou miR-214-3p, miR-199a-3p a miR-155-5p, které jsou úzce spojeny s progresí melanomu a metastazováním. Tyto miRNA jsou v exozomech obohaceny ve srovnání s jinými typy EV a jsou spojeny s důležitými cestami souvisejícími s melanomem, jako je regulace signální dráhy MAPK a interakce nádorového mikroprostředí. Zajímavé je, že srovnání profilů miRNA z exozomů odvozených od MML-1 s klinickými vzorky melanomu vykazuje významné překrývání, což naznačuje klinický význam tohoto buněčného modelu pro pochopení progresu melanomu.

Kromě miRNA uvolňují buňky MML-1 také další nekódující RNA, jako jsou malé nukleolární RNA (snoRNA) a mitochondriálně asociované transferové RNA (mt-RNA), které jsou různě distribuovány mezi podtypy EV. Tato zjištění zdůrazňují užitečnost buněčné linie MML-1 při studiu molekulárních mechanismů melanomu, zejména toho, jak nádorové buňky komunikují prostřednictvím EV a ovlivňují své mikroprostředí.

Organism Člověk**Tissue** Kůže**Disease** Melanom**Synonyms** MML1**Charakteristika****Age** Nespecifikováno**Gender** Nespecifikováno**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** MML-1 (katalogové číslo Cytion 300288)

Buňky MML-1 | 300288

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6004

Biomolekulární data

Protein expression	P53 pozitivní
--------------------	---------------

Tumorigenic	Ano, u nahých myší
-------------	--------------------

Reverse transcriptase	Negativní
-----------------------	-----------

Mutational profile	Mutace V600E typu BRAF byla stanovena metodami založenými na DNA (sekvenování, RT-PCR) a metodami založenými na proteinech (Western Blot).
--------------------	--

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
----------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
-------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adhezaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
--------------	--

Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:5
-------------	--------------------------------

Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²
-----------------	---

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
---------------	------------------

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

Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

**Freeze
medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Buňky MML-1 | 300288**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza**Sterility**

Kontaminace mykoplasmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplasmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

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