

MML-1-celler | 300288**Generel information****Description**

MML-1-cellelinjen er en melanomcellelinje, der stammer fra malignt melanom. Denne cellelinje bruges primært til at studere melanomets biologi, især den rolle, som ekstracellulære vesikler (EV'er) spiller i celle-til-celle-kommunikation og tumorprogression. MML-1-celler frigiver forskellige undertyper af EV'er, herunder exosomer, mikrovesikler og apoptotiske legemer, som hver især bærer forskellige RNA-kargoer, såsom mikroRNA'er (miRNA'er) og andre ikke-kodende RNA'er.

Undersøgelser med MML-1-celler har vist, at exosomer frigivet fra disse celler indeholder specifikke miRNA'er som miR-214-3p, miR-199a-3p og miR-155-5p, som er tæt forbundet med melanomprogression og metastase. Disse miRNA'er er beriget i exosomer sammenlignet med andre EV-typer og er blevet forbundet med vigtige melanomrelaterede veje, såsom regulering af MAPK-signalvejen og interaktioner med tumormikromiljøet. Interessant nok viser sammenligninger af miRNA-profiler fra MML-1-afledte exosomer med kliniske prøver af melanom et betydeligt overlap, hvilket indikerer den kliniske relevans af denne cellemodel i forståelsen af melanomprogression.

Ud over miRNA'er frigiver MML-1-celler også andre ikke-kodende RNA'er såsom små nukleolære RNA'er (snoRNA'er) og mitokondrie-associerede transfer-RNA'er (mt-RNA'er), som er forskelligt fordelt mellem EV-undertyperne. Disse resultater fremhæver MML-1-cellelinjens anvendelighed til at studere de molekylære mekanismer i melanom, især hvordan tumorceller kommunikerer via EV'er og påvirker deres mikromiljø.

Organism

Menneske

Tissue

Hud

Disease

Modermærkekræft

Synonyms

MML1

Karakteristika**Age**

Uspecificeret

Gender

Uspecificeret

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data**Citation**

MML-1 (Cytion katalognummer 300288)

MML-1-celler | 300288

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6004

Biomolekylære data

Protein expression	P53-positiv
Tumorigenic	Yees, i nøgne mus
Reverse transcriptase	Negativ
Mutational profile	V600E-type BRAF-mutation blev bestemt ved hjælp af DNA-baserede metoder (sekventering, RT-PCR) og proteinbaserede metoder (Western Blot).

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
--------------	---

Seeding density	1×10^4 celler/cm ²
-----------------	--

Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
---------------	-----------------------

Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm ² , og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
--------------------	---

MML-1-celler | 300288**Freeze medium**

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

MML-1-celler | 300288

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.