

Cellules MML-1 | 300288**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire MML-1 est une lignée cellulaire de mélanome dérivée d'un mélanome malin. Cette lignée cellulaire est principalement utilisée pour étudier la biologie du mélanome, en particulier le rôle des vésicules extracellulaires (VE) dans la communication intercellulaire et la progression de la tumeur. Les cellules MML-1 libèrent différents sous-types de VE, notamment des exosomes, des microvésicules et des corps apoptotiques, chacun transportant des cargos d'ARN distincts, tels que des microARN (miARN) et d'autres ARN non codants.

Des études menées sur des cellules MML-1 ont démontré que les exosomes libérés par ces cellules contiennent des miARN spécifiques tels que miR-214-3p, miR-199a-3p et miR-155-5p, qui sont étroitement associés à la progression du mélanome et à la formation de métastases. Ces miARN sont enrichis dans les exosomes par rapport à d'autres types d'EV et ont été associés à d'importantes voies liées au mélanome, telles que la régulation de la voie de signalisation MAPK et les interactions avec le microenvironnement tumoral. Il est intéressant de noter que les comparaisons des profils d'ARNm des exosomes dérivés de MML-1 avec des échantillons cliniques de mélanome montrent un chevauchement significatif, ce qui indique la pertinence clinique de ce modèle cellulaire dans la compréhension de la progression du mélanome.

Outre les miARN, les cellules MML-1 libèrent également d'autres ARN non codants tels que les petits ARN nucléolaires (snoRNA) et les ARN de transfert associés aux mitochondries (mt-RNA), qui sont distribués de manière différentielle entre les sous-types d'EV. Ces résultats soulignent l'utilité de la lignée cellulaire MML-1 pour l'étude des mécanismes moléculaires du mélanome, en particulier la façon dont les cellules tumorales communiquent via les EV et influencent leur microenvironnement.

Organism Humain**Tissue** Peau**Disease** Mélanome**Synonyms** MML1**Caractéristiques****Age** Non spécifié**Gender** Non spécifié**Morphology** De type épithélial**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires**

Cellules MML-1 | 300288

Citation MML-1 (numéro de catalogue Cytion 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004

Données biomoléculaires

Protein expression P53 positif**Tumorigenic** Oui, sur des souris nues**Reverse transcriptase** Négatif**Mutational profile** La mutation BRAF de type V600E a été déterminée par des méthodes basées sur l'ADN (séquençage, RT-PCR) et sur les protéines (Western Blot).

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:2 à 1:5 est recommandé**Seeding density** 1×10^4 cellules/cm²

Cellules MML-1 | 300288

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Cellules MML-1 | 300288**Flask Coating**

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire**Sterility**

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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