

Cellule MML-1 | 300288**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare MML-1 è una linea cellulare derivata da melanoma maligno. Questa linea cellulare è utilizzata principalmente per studiare la biologia del melanoma, in particolare il ruolo delle vescicole extracellulari (EVs) nella comunicazione cellula-cellula e nella progressione tumorale. Le cellule MML-1 rilasciano vari sottotipi di EVs, tra cui esosomi, microvescicole e corpi apoptotici, ognuno dei quali trasporta carichi di RNA distinti, come microRNA (miRNA) e altri RNA non codificanti.

Studi condotti su cellule MML-1 hanno dimostrato che gli esosomi rilasciati da queste cellule contengono miRNA specifici come miR-214-3p, miR-199a-3p e miR-155-5p, strettamente associati alla progressione del melanoma e alle metastasi. Questi miRNA sono arricchiti negli esosomi rispetto ad altri tipi di EV e sono stati collegati a importanti percorsi legati al melanoma, come la regolazione della via di segnalazione MAPK e le interazioni con il microambiente tumorale. È interessante notare che il confronto dei profili di miRNA degli esosomi derivati da MML-1 con campioni clinici di melanoma mostra una significativa sovrapposizione, indicando la rilevanza clinica di questo modello cellulare nella comprensione della progressione del melanoma.

Oltre ai miRNA, le cellule MML-1 rilasciano anche altri RNA non codificanti, come i piccoli RNA nucleolari (snoRNA) e gli RNA di trasferimento associati ai mitocondri (mt-RNA), che sono distribuiti in modo differenziato tra i sottotipi di EV. Questi risultati evidenziano l'utilità della linea cellulare MML-1 per lo studio dei meccanismi molecolari del melanoma, in particolare di come le cellule tumorali comunicano attraverso le EV e influenzano il loro microambiente.

Organism Umano**Tissue** La pelle**Disease** Melanoma**Synonyms** MML1**Caratteristiche****Age** Non specificato**Gender** Non specificato**Morphology** Simile all'epitelio**Growth properties** Aderente**Dati normativi**

Cellule MML-1 | 300288

Citation MML-1 (numero di catalogo Cytion 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004

Dati biomolecolari

Protein expression P53 positivo**Tumorigenic** Sì, in topi nudi**Reverse transcriptase** Negativo**Mutational profile** La mutazione BRAF di tipo V600E è stata determinata con metodi basati sul DNA (sequenziamento, RT-PCR) e sulle proteine (Western Blot).

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:5**Seeding density** 1×10^4 cellule/cm²

Cellule MML-1 | 300288

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Cellule MML-1 | 300288

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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