

MML-1-celler | 300288**Generell informasjon****Description**

MML-1-cellelinjen er en melanomcellelinje som stammer fra malignt melanom. Denne cellelinjen brukes primært til å studere melanomets biologi, spesielt den rollen ekstracellulære vesikler (EVs) spiller i celle-til-celle-kommunikasjon og tumorprogresjon. MML-1-celler frigjør ulike undertyper av EV-er, inkludert eksosomer, mikrovesikler og apoptotiske legemer, som alle inneholder forskjellige RNA-kargoer, for eksempel mikroRNAer (miRNAer) og andre ikke-kodende RNAer.

Studier med MML-1-celler har vist at eksosomer som frigjøres fra disse cellene, inneholder spesifikke miRNA som miR-214-3p, miR-199a-3p og miR-155-5p, som er nært forbundet med melanomprogresjon og metastase. Disse miRNA-ene er anriket i eksosomer sammenlignet med andre EV-typer, og de har blitt knyttet til viktige melanomrelaterte veier, som regulering av MAPK-signalveien og interaksjoner med tumorens mikromiljø. Interessant nok viser sammenligninger av miRNA-profiler fra MML-1-avledede eksosomer med kliniske prøver av melanom en betydelig overlapp, noe som indikerer den kliniske relevansen av denne cellemodellen for å forstå melanomprogresjon.

I tillegg til miRNA frigjør MML-1-celler også andre ikke-kodende RNA-er, som små nukleolære RNA-er (snoRNA-er) og mitokondrieassosierte transfer-RNA-er (mt-RNA-er), som er ulikt fordelt mellom de ulike subtypene av EV-er. Disse funnene understreker MML-1-cellelinjens anvendelighet i studier av de molekylære mekanismene ved føflekkreft, spesielt hvordan tumorceller kommuniserer via EV-er og påvirker mikromiljøet sitt.

Organism Menneskelig**Tissue** Hud**Disease** Melanom**Synonyms** MML1**Kjennetegn****Age** Uspesifisert**Gender** Uspesifisert**Morphology** Epitel-lignende**Growth properties** Vedhengende**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	Ja, i nakne mus
Reverse transcriptase	Negativ
Mutational profile	V600E-type BRAF-mutasjon ble bestemt ved hjelp av DNA-baserte metoder (sekvensering, RT-PCR) og proteinbaserte metoder (Western Blot).

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:5 anbefales
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

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

Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrys ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturbolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-bolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

MML-1-celler | 300288

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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