

Células MML-1 | 300288**Informações gerais****Description**

A linha de células MML-1 é uma linha de células de melanoma derivada de melanoma maligno. Esta linha celular é utilizada principalmente para estudar a biologia do melanoma, em particular o papel das vesículas extracelulares (EVs) na comunicação célula-a-célula e na progressão do tumor. As células MML-1 libertam vários subtipos de EVs, incluindo exossomas, microvesículas e corpos apoptóticos, cada um transportando cargas de RNA distintas, como microRNAs (miRNAs) e outros RNAs não codificantes.

Estudos realizados com células MML-1 demonstraram que os exossomas libertados por estas células contêm miRNAs específicos, como o miR-214-3p, o miR-199a-3p e o miR-155-5p, que estão intimamente associados à progressão e metástase do melanoma. Estes miRNAs são enriquecidos em exossomas em comparação com outros tipos de EV e têm sido associados a importantes vias relacionadas com o melanoma, tais como a regulação da via de sinalização MAPK e as interações do microambiente tumoral. Curiosamente, as comparações dos perfis de miRNA dos exossomas derivados de MML-1 com amostras clínicas de melanoma mostram uma sobreposição significativa, indicando a relevância clínica deste modelo celular na compreensão da progressão do melanoma.

Para além dos miRNAs, as células MML-1 também libertam outros RNAs não codificantes, tais como pequenos RNAs nucleolares (snoRNAs) e RNAs de transferência associados a mitocôndrias (mt-RNAs), que se distribuem diferencialmente entre os subtipos de EV. Estas descobertas realçam a utilidade da linha celular MML-1 no estudo dos mecanismos moleculares do melanoma, em particular a forma como as células tumorais comunicam através de EVs e influenciam o seu microambiente.

Organism Humano**Tissue** Pele**Disease** Melanoma**Synonyms** MML1**Caraterísticas****Age** Não especificado**Gender** Não especificado**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

Células MML-1 | 300288**Citation** MML-1 (número de catálogo Cytion 300288)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6004**Dados biomoleculares****Protein expression** P53 positivo**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Reverse transcriptase** Negativo**Mutational profile** A mutação BRAF do tipo V600E foi determinada por métodos baseados em ADN (sequenciação, RT-PCR) e métodos baseados em proteínas (Western Blot).**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

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

Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

**Freeze
medium**

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células MML-1 | 300288

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.