

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

MML-1-cellinjen är en melanomcellinje som härrör från malignt melanom. Denna cellinje används främst för att studera melanomets biologi, i synnerhet de extracellulära vesiklarnas (EVs) roll i cell-till-cell-kommunikation och tumörutveckling. MML-1-celler frisätter olika subtyper av EVs, inklusive exosomer, mikrovesiklar och apoptotiska kroppar, som alla bär på olika RNA-fraktioner, såsom mikroRNA (miRNA) och andra icke-kodande RNA.

Studier med MML-1-celler har visat att exosomer som frigörs från dessa celler innehåller specifika miRNA som miR-214-3p, miR-199a-3p och miR-155-5p, vilka är nära förknippade med melanomutveckling och metastasering. Dessa miRNA är berikade i exosomer jämfört med andra EV-typer och har kopplats till viktiga melanomrelaterade vägar, såsom reglering av MAPK-signalvägen och interaktioner med tumörens mikromiljö. Intressant nog visar jämförelser av miRNA-profiler från MML-1-deriverade exosomer med kliniska prover av melanom en betydande överlappning, vilket indikerar den kliniska relevansen av denna cellmodell för att förstå melanomutveckling.

Förutom miRNA frigör MML-1-celler också andra icke-kodande RNA, såsom små nukleolära RNA (snoRNA) och mitokondrieassocierade transfer-RNA (mt-RNA), som är olika fördelade bland EV-subtyperna. Dessa resultat belyser MML-1-cellinjens användbarhet för att studera de molekylära mekanismerna för melanom, särskilt hur tumörceller kommunicerar via EVs och påverkar sin mikromiljö.

Organism Människan**Tissue** Hud**Disease** Melanom**Synonyms** MML1**Egenskaper****Age** Ospecificerad**Gender** Ospecificerad**Morphology** Epitelliknande**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** MML-1 (Cytion katalognummer 300288)

MML-1-celler | 300288

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6004

Biomolekylära data

Protein expression	P53-positiv
Tumorigenic	Ja, i nakna möss
Reverse transcriptase	Negativt
Mutational profile	BRAF-mutation av V600E-typ fastställdes med DNA-baserade metoder (sekvensering, RT-PCR) och proteinbaserade metoder (Western Blot).

Hantering

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

Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
---------------------	---

Split ratio	Ett förhållande på 1:2 till 1:5 rekommenderas
--------------------	---

Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
----------------------	---------------------------

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

Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium

Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

MML-1-celler | 300288**Freezing Procedure**

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys**Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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