

**Bunky MML-1 | 300288****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia MML-1 je melanómová bunková línia odvodená od malígneho melanómu. Táto bunková línia sa používa predovšetkým na štúdium biológie melanómu, najmä úlohy extracelulárnych vezikúl (EV) v komunikácii medzi bunkami a progresii nádoru. Bunky MML-1 uvoľňujú rôzne podtypy EV vrátane exozómov, mikrovezikúl a apoptotických teliesok, z ktorých každé nesie odlišný kargo RNA, ako sú mikroRNA (miRNA) a iné nekódujúce RNA.

Štúdie s použitím buniek MML-1 preukázali, že exozómy uvoľnené z týchto buniek obsahujú špecifické miRNA, ako miR-214-3p, miR-199a-3p a miR-155-5p, ktoré sú úzko spojené s progresiou melanómu a metastázovaním. Tieto miRNA sú obohatené v exozómoch v porovnaní s inými typmi EV a sú spojené s dôležitými dráhami súvisiacimi s melanómom, ako je regulácia signálnej dráhy MAPK a interakcie nádorového mikroprostredia. Zaujímavé je, že porovnania profilov miRNA z exozómov odvodených od MML-1 s klinickými vzorkami melanómu vykazujú významné prekrytie, čo poukazuje na klinický význam tohto bunkového modelu pri pochopení progresie melanómu.

Okrem miRNA bunky MML-1 uvoľňujú aj iné nekódujúce RNA, ako sú malé jadrové RNA (snoRNA) a mitochondriálne transferové RNA (mt-RNA), ktoré sú rozdielne distribuované medzi podtypmi EV. Tieto zistenia zdôrazňujú užitočnosť bunkovej línie MML-1 pri štúdiu molekulárnych mechanizmov melanómu, najmä toho, ako nádorové bunky komunikujú prostredníctvom EV a ovplyvňujú svoje mikroprostredie.

**Organism** Ľudské**Tissue** Koža**Disease** Melanóm**Synonyms** MML1**Charakteristika****Age** Nešpecifikované**Gender** Nešpecifikované**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** MML-1 (katalógové číslo Cytion 300288)

**Bunky MML-1 | 300288**

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| <b>Biosafety level</b>      | 1         |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606      |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_6004 |

**Biomolekulárne údaje**

|                           |               |
|---------------------------|---------------|
| <b>Protein expression</b> | P53 pozitívny |
|---------------------------|---------------|

|                    |                        |
|--------------------|------------------------|
| <b>Tumorigenic</b> | Áno, na nahých myšiach |
|--------------------|------------------------|

|                              |           |
|------------------------------|-----------|
| <b>Reverse transcriptase</b> | Negatívne |
|------------------------------|-----------|

|                           |                                                                                                                                              |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mutational profile</b> | Mutácia BRAF typu V600E bola stanovená metódami založenými na DNA (sekvenovanie, RT-PCR) a metódami založenými na proteínoch (Western Blot). |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Spracovanie**

|                       |                                                                                                      |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Culture Medium</b> | RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a) |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                    |                           |
|--------------------|---------------------------|
| <b>Supplements</b> | Doplňte médium o 10 % FBS |
|--------------------|---------------------------|

|                             |          |
|-----------------------------|----------|
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase |
|-----------------------------|----------|

|                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Subculturing</b> | Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium. |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                        |                                            |
|------------------------|--------------------------------------------|
| <b>Seeding density</b> | 1 x 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup> |
|------------------------|--------------------------------------------|

|                      |                      |
|----------------------|----------------------|
| <b>Fluid renewal</b> | 2 až 3-krát týždenne |
|----------------------|----------------------|

|                           |                                                                                                                                                                 |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Post-Thaw Recovery</b> | Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín. |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

**Bunky MML-1 | 300288****Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Bunky MML-1 | 300288

#### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

#### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality a molekulárna analýza

#### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.