

Celice MML-1 | 300288**Splošne informacije****Description**

Celična linija MML-1 je melanomska celična linija, pridobljena iz malignega melanoma. Ta celična linija se uporablja predvsem za preučevanje biologije melanoma, zlasti vloge zunajceličnih veziklov (EV) pri komunikaciji med celicami in napredovanju tumorja. Celice MML-1 sproščajo različne podtipi EV, vključno z eksosomi, mikrovezikuli in apoptotskimi telesi, ki nosijo različne RNA-naprave, kot so mikroRNA (miRNA) in druge nekodirajoče RNA.

Študije z uporabo celic MML-1 so pokazale, da eksosomi, ki se sproščajo iz teh celic, vsebujejo posebne miRNA, kot so miR-214-3p, miR-199a-3p in miR-155-5p, ki so tesno povezane z napredovanjem melanoma in metastaziranjem. Te miRNA so v primerjavi z drugimi vrstami EV obogatene v eksosomih in so povezane s pomembnimi potmi, povezanimi z melanomom, kot so regulacija signalne poti MAPK in interakcije med tumorskim mikrookoljem. Zanimivo je, da primerjave profilov miRNA iz eksosomov, pridobljenih iz MML-1, s kliničnimi vzorci melanoma kažejo znatno prekrivanje, kar kaže na klinični pomen tega celičnega modela pri razumevanju napredovanja melanoma.

Poleg miRNA celice MML-1 sproščajo tudi druge nekodirajoče RNA, kot so majhne nukleolarne RNA (snoRNA) in z mitohondriji povezane prenosne RNA (mt-RNA), ki so različno razporejene med podtipi EV. Te ugotovitve poudarjajo uporabnost celične linije MML-1 pri preučevanju molekularnih mehanizmov melanoma, zlasti tega, kako tumorske celice komunicirajo prek EV in vplivajo na svoje mikrookolje.

Organism Človek**Tissue** Koža**Disease** Melanom**Synonyms** MML1**Značilnosti****Age** Neopredeljeno**Gender** Neopredeljeno**Morphology** Epitelijam podobni**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** MML-1 (katalogska številka Cytion 300288)

Celice MML-1 | 300288

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6004

Biomolekularni podatki

Protein expression	P53 pozitiven
Tumorigenic	Da, na golih miših
Reverse transcriptase	Negativni
Mutational profile	Mutacijo BRAF tipa V600E so določili z metodami, ki temeljijo na DNK (sekvenciranje, RT-PCR), in metodami, ki temeljijo na beljakovinah (Western Blot).

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

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

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MML-1 | 300288

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.