MML-1

300288

GENERAL INFORMATION

Description

A linhagem celular MML-1 é uma linhagem de melanoma derivada de um melanoma maligno. Essa linhagem celular é utilizada principalmente para estudar a biologia do melanoma, especialmente o papel das vesículas extracelulares (EVs) na comunicação célula a célula e na progressão tumoral. As células MML-1 liberam vários subtipos de EVs, incluindo exossomos, microvesículas e corpos apoptóticos, cada um transportando cargas distintas de RNA, como microRNAs (miRNAs) e outros RNAs não codificantes.
Estudos utilizando células MML-1 demonstraram que os exossomos liberados por essas células contêm miRNAs específicos, como miR-214-3p, miR-199a-3p e miR-155-5p, que estão intimamente associados à progressão e metástase do melanoma. Esses miRNAs estão mais presentes nos exossomos em comparação com outros tipos de EV e têm sido associados a importantes vias relacionadas ao melanoma, como a regulação da via de sinalização MAPK e as interações com o microambiente tumoral. Curiosamente, comparações entre os perfis de miRNAs de exossomos derivados de MML-1 e amostras clínicas de melanoma mostram uma sobreposição significativa, indicando a relevância clínica desse modelo celular para a compreensão da progressão do melanoma.
Além dos miRNAs, as células MML-1 também liberam outros RNAs não codificantes, como os pequenos RNAs nucleolares (snoRNAs) e os RNAs de transferência associados à mitocôndria (mt-RNAs), que apresentam distribuição diferenciada entre os subtipos de EV. Essas descobertas destacam a utilidade da linhagem celular MML-1 no estudo dos mecanismos moleculares do melanoma, particularmente como as células tumorais se comunicam por meio de EVs e influenciam seu microambiente.

Tissue	Pele
Disease	Melanoma

Synonyms

- MML1

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Unspecified
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Tumourigenic	Sim, em camundongos nude

IDENTIFIERS

Citation

MML-1 (número de catálogo da Cytion 300288)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_6004

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

P53 positivo

Mutational profile

A mutação no gene BRAF do tipo V600E foi determinada por meio de métodos baseados em DNA (sequenciamento, RT-PCR) e métodos baseados em proteínas (Western Blot).

Reverse transcriptase	Negativo

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion: 820700a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-thaw recovery	Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	Não especificado

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes