**Product sheet**

# Клетки M14 | 302163

## Обща информация

| | |
|---|---|
| **Description** | Клетъчната линия M14 е човешка меланомна клетъчна линия, получена от метастатична кожна лезия на възрастен пациент с меланом. Тази клетъчна линия се използва широко в изследванията на рака, особено в проучването на биологията на меланома, прогресията на тумора и оценката на потенциални терапевтични средства. Клетките M14 притежават характеристики, типични за злокачествения меланом, включително способността да образуват тумори в имунокомпрометирани мишки, което ги прави ценен инструмент за in vivo изследвания в допълнение към in vitro експериментите.<br><br>По отношение на молекулярните характеристики е съобщено, че клетките M14 са носители на мутации в гени, които често се променят при меланома, включително гена BRAF. По-конкретно, клетките M14 притежават мутацията BRAF V600E, която води до конститутивно активиране на MAPK/ERK сигналния път, насърчавайки клетъчната пролиферация и оцеляване. Това превръща M14 във важен модел за изучаване на целеви терапии, като инхибитори на BRAF, които са предназначени да използват тази мутация. Освен това клетките M14 се използват в изследвания в областта на имунотерапията поради експресията на различни антигени, свързани с меланома, и податливостта им на модулация на имунната система.<br><br>Изследователите, използващи клетъчната линия M14, трябва да имат предвид, че тези клетки не са подходящи за терапевтични приложения и са предназначени единствено за изследователски цели, особено за такива, насочени към патофизиологията на меланома, скрининг на лекарства и разработване на нови терапевтични стратегии. Клетъчната линия M14 остава ключов ресурс за подобряване на разбирането ни за меланома и за проучване на нови възможности за лечение. |
| **Organism** | Човек |
| **Tissue** | Кожа |
| **Disease** | Амеланотичен меланом |
| **Metastatic site** | Десен седалищен мускул, хиподерма |
| **Synonyms** | M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Меланом 14, M-14 |

## Характеристики

| | |
|---|---|
| **Age** | 33 |
| **Gender** | Мъжки |
| **Ethnicity** | Европейски |
| **Morphology** | Подобни на фибробласти |

# Клетки M14 | 302163

| | |
|---|---|
| **Growth properties** | Придържащи се |

## Регулаторни данни

| | |
|---|---|
| **Citation** | M14 (каталожен номер 302163 на Cytion) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_1395 |

## Биомолекулярни данни

## Работа с

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a) |
| **Supplements** | Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Subculturing** | Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда. |
| **Freeze medium** | Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес. |

# Клетки M14 | 302163

## Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

## Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

## Flask Coating

Няма

## Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки M14 | 302163

| | |
|---|---|
| **Shipping Conditions** | Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение. |
| **Storage Conditions** | За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот. |

## Контрол на качеството и молекулярен анализ

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.<br><br>За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки. |