

Buňky M14 | 302163

Obecné informace

Description

Buněčná linie M14 je lidská melanomová buněčná linie odvozená z metastatické kožní léze dospělého pacienta s melanomem. Tato buněčná linie se široce používá ve výzkumu rakoviny, zejména při studiu biologie melanomu, progresu nádoru a hodnocení potenciálních terapeutických látek. Buňky M14 vykazují vlastnosti typické pro maligní melanom, včetně schopnosti vytvářet nádory v imunokompromitovaných myších, což z nich činí cenný nástroj pro studie in vivo i pro experimenty in vitro.

Pokud jde o molekulární vlastnosti, bylo zjištěno, že buňky M14 nesou mutace v genech, které jsou u melanomu často změněny, včetně genu BRAF. Konkrétně buňky M14 nesou mutaci BRAF V600E, která vede ke konstitutivní aktivaci signální dráhy MAPK/ERK a podporuje proliferaci a přežití buněk. Díky tomu je M14 důležitým modelem pro studium cílených terapií, jako jsou inhibitory BRAF, které jsou navrženy tak, aby tuto mutaci využívaly. Kromě toho se buňky M14 využívají ve výzkumu imunoterapie díky expresi různých antigenů spojených s melanomem a náchylnosti k modulaci imunitního systému.

Výzkumníci používající buněčnou linii M14 by měli vzít na vědomí, že tyto buňky nejsou vhodné pro terapeutické aplikace a jsou určeny výhradně pro výzkumné účely, zejména pro ty, které se zaměřují na patofyziologii melanomu, screening léčiv a vývoj nových terapeutických strategií. Buněčná linie M14 je i nadále klíčovým zdrojem pro prohloubení našich znalostí o melanomu a zkoumání nových možností léčby.

Organism

Člověk

Tissue

Kůže

Disease

Amelanotický melanom

Metastatic site

Pravá hýždě, podkoží

Synonyms

M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanom 14, M-14

Charakteristika

Age

33

Gender

Muži

Ethnicity

Evropská

Morphology

Fibroblastům podobné

Growth properties

Adherentní

Buňky M14 | 302163**Regulační údaje**

Citation	M14 (katalogové číslo Cytion 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Biomolekulární data**Zpracování**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky M14 | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky M14 | 302163

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.