Product sheet

M14-Zellen | 302163

Allgemeine Informationen

Description	Die M14-Zelllinie ist eine humane Melanom-Zelllinie, die aus einer metastatischen Hautläsion eines erwachsenen Patienten mit Melanom stammt. Diese Zelllinie wird in der Krebsforschung häufig verwendet, insbesondere bei der Untersuchung der Melanombiologie, der Tumorprogression und der Bewertung potenzieller therapeutischer Wirkstoffe. M14-Zellen weisen typische Merkmale des malignen Melanoms auf, darunter die Fähigkeit, in immungeschwächten Mäusen Tumore zu bilden, was sie zusätzlich zu den In-vitro-Experimenten zu einem wertvollen Instrument für In-vivo-Studien macht. Was die molekularen Merkmale betrifft, so wurde berichtet, dass M14-Zellen Mutationen in Genen tragen, die bei Melanomen häufig verändert sind, darunter das BRAF-Gen. Insbesondere weisen M14-Zellen die BRAF-V600E-Mutation auf, die zu einer konstitutiven Aktivierung des MAPK/ERK-Signalwegs führt und die Zellproliferation und das Überleben fördert. Dies macht M14 zu einem wichtigen Modell für die Untersuchung zielgerichteter Therapien, wie z. B. BRAF-Inhibitoren, die auf diese Mutation abzielen. Darüber hinaus wurden M14-Zellen aufgrund ihrer Expression verschiedener Melanom-assoziierter Antigene und ihrer Anfälligkeit für eine Modulation des Immunsystems in der Immuntherapieforschung eingesetzt. Forscher, die die M14-Zelllinie verwenden, sollten beachten, dass sich diese Zellen nicht für therapeutische Anwendungen eignen und ausschließlich für Forschungszwecke bestimmt sind, insbesondere für solche, die sich mit der Pathophysiologie des Melanoms, dem Wirkstoffscreening und der Entwicklung neuer therapeutischer Strategien befassen. Die M14-Zelllinie bleibt eine wichtige Ressource, um unser Verständnis des Melanoms zu verbessern und neue Behandlungsmöglichkeiten zu erforschen.
Organism	Menschen
Tissue	Haut
Disease	Amelanotisches Melanom
Metastatic site	Rechte Gesäßbacke, Unterhaut
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanom 14, M-14

Merkmale

Age	33
Gender	Männlich
Ethnicity	Europäisch
Morphology	Fibroblastenähnlich

M14-Zellen | 302163

Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% hitzeinaktiviertem FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

M14-Zellen | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.

2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.

3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.

4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.

5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.

6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.

7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.

8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.