Product sheet

Κύτταρα M14 | 302163

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά M14 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά μελανώματος που προέρχεται από μια μεταστατική δερματική βλάβη ενός ενήλικου ασθενούς με μελάνωμα. Αυτή η κυτταρική σειρά χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τον καρκίνο, ιδίως στη μελέτη της βιολογίας του μελανώματος, της εξέλιξης του όγκου και της αξιολόγησης πιθανών θεραπευτικών παραγόντων. Τα κύτταρα M14 παρουσιάζουν χαρακτηριστικά τυπικά του κακοήθους μελανώματος, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας σχηματισμού όγκων σε ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια, γεγονός που τα καθιστά πολύτιμο εργαλείο για in vivo μελέτες εκτός από τα in vitro πειράματα. Όσον αφορά τα μοριακά χαρακτηριστικά, έχει αναφερθεί ότι τα κύτταρα M14 φέρουν μεταλλάξεις σε γονίδια που μεταβάλλονται συχνά στο μελάνωμα, συμπεριλαμβανομένου του γονιδίου BRAF. Συγκεκριμένα, τα κύτταρα M14 φέρουν τη μετάλλαξη BRAF V600E, η οποία οδηγεί σε συστατική ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού MAPK/ERK, προωθώντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την επιβίωση. Αυτό καθιστά το M14 ένα σημαντικό μοντέλο για τη μελέτη στοχευμένων θεραπειών, όπως οι αναστολείς του BRAF, που έχουν σχεδιαστεί για να εκμεταλλεύονται αυτή τη μετάλλαξη. Επιπλέον, τα κύτταρα M14 έχουν χρησιμοποιηθεί στην έρευνα για την ανοσοθεραπεία λόγω της έκφρασης διαφόρων αντιγόνων που σχετίζονται με το μελάνωμα και της ευαισθησίας τους στη διαμόρφωση του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι ερευνητές που χρησιμοποιούν την κυτταρική σειρά M14 θα πρέπει να σημειώσουν ότι τα κύτταρα αυτά δεν είναι κατάλληλα για θεραπευτικές εφαρμογές και προορίζονται αποκλειστικά για ερευνητικούς σκοπούς, ιδίως εκείνους που εστιάζουν στην παθοφυσιολογία του μελανώματος, στον έλεγχο φαρμάκων και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών. Η κυτταρική σειρά M14 παραμένει ένας βασικός πόρος για την προώθηση της κατανόησης του μελανώματος και τη διερεύνηση νέων οδών για τη θεραπεία.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Δέρμα
Disease	Αμελανωτικό μελάνωμα
Metastatic site	Δεξιός γλουτός, υποδερμίδα
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Μελάνωμα 14, M-14

Χαρακτηριστικά

Age	33
Gender	Άντρας
Ethnicity	Ευρωπαϊκό
Morphology	Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

Κύτταρα M14 | 302163

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα M14 | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα M14 | 302163

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.