

## M14 rakud | 302163

## Üldine teave

## Description

M14 rakuliin on inimese melanoomi rakuliin, mis on saadud täiskasvanud melanoomiga patsiendi metastaatilises nahakahjustusest. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes, eelkõige melanoomi bioloogia, kasvaja progresseerumise ja võimalike terapeutiliste ainete hindamisel. M14 rakkudel on pahaloomule iseloomulikud omadused, sealhulgas võime moodustada immuunpuudulikkusega hiirtel kasvajaid, mis teeb neist lisaks in vitro katsetele ka väärtusliku in vivo uuringu vahendi.

Molekulaarsete omaduste osas on teatatud, et M14 rakud kannavad melanoomi puhul sageli muutunud geenide, sealhulgas BRAF-geeni mutatsioone. Konkreetselt kannavad M14 rakud BRAF V600E mutatsiooni, mis põhjustab MAPK/ERK signaaliradu konstitutiivset aktiveerimist, mis soodustab rakkude proliferatsiooni ja ellujäämist. See muudab M14 rakud oluliseks mudeliks sihtotstarbeliste ravimeetodite, näiteks BRAFi inhibiitorite uurimiseks, mis on kavandatud selle mutatsiooni ärakasutamiseks. Lisaks on M14 rakke kasutatud immunoteraapia uuringutes, kuna nad ekspresseerivad erinevaid melanoomiga seotud antigene ja on tundlikud immuunsüsteemi modulatsioonile.

M14 rakuliini kasutavad teadlased peaksid arvestama, et need rakud ei sobi terapeutiliseks kasutamiseks ja on mõeldud üksnes teadustööks, eelkõige melanoomi patofüsioloogiale, ravimite skriiningule ja uute ravistrateegiate väljatöötamisele keskenduvateks uuringuteks. M14 rakuliin on jätkuvalt oluline ressurss, et edendada meie arusaamist melanoomist ja uurida uusi ravivõimalusi.

**Organism** Inimene

**Tissue** Nahk

**Disease** Amelanootiline melanoom

**Metastatic site** Paremal tuharal, hüpodermis

**Synonyms** M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoom 14, M-14

## Omadused

**Age** 33

**Gender** Mees

**Ethnicity** Euroopa

**Morphology** Fibroblastilaadsed

**Growth properties** Kinnipeetav

## M14 rakud | 302163

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	M14 (Cytioni katalooginumber 302163)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1395

## Biomolekulaarsed andmed

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
<b>Freeze medium</b>	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## M14 rakud | 302163

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**M14 rakud | 302163**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.