Product sheet

M14 rakud | 302163

Üldine teave

Description	M14 rakuliin on inimese melanoomi rakuliin, mis on saadud täiskasvanud melanoomiga patsiendi metastaatilisest nahakahjustusest. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes, eelkõige melanoomi bioloogia, kasvaja progresseerumise ja võimalike raviainete hindamisel. M14 rakkudel on pahaloomale 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 antigeene 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

Product sheet

M14 rakud | 302163

Regulatiivsed andmed

Citation	M14 (Cytioni kataloginumber 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.