Product sheet

M14-kennot | 302163

Yleisiä tietoja

Description	M14-solulinja on ihmisen melanoomasolulinja, joka on peräisin aikuisen melanoomapotilaan metastaattisesta ihomuutoksesta. Tätä solulinjaa käytetään laajalti syöpätutkimuksessa, erityisesti melanooman biologian, kasvaimen etenemisen ja mahdollisten terapeuttisten aineiden arvioinnissa. M14-soluilla on pahanlaatuiselle melanoomalle tyypillisiä ominaisuuksia, kuten kyky muodostaa kasvaimia immuunipuutteisissa hiirissä, mikä tekee niistä arvokkaan välineen in vivo -tutkimuksiin in vitro -kokeiden lisäksi. Molekyyliominaisuuksien osalta M14-solujen on raportoitu kantavan mutaatioita geeneissä, jotka muuttuvat usein melanoomassa, mukaan lukien BRAF-geeni. Erityisesti M14-soluissa on BRAF V600E -mutaatio, joka johtaa MAPK/ERK-signalointireitin konstitutiiviseen aktivoitumiseen, mikä edistää solujen lisääntymistä ja selviytymistä. Tämä tekee M14-soluista tärkeän mallin sellaisten kohdennettujen hoitojen, kuten BRAF:n estäjien, tutkimiseen, jotka on suunniteltu hyödyntämään tätä mutaatiota. Lisäksi M14-soluja on hyödynnetty immunoterapiatutkimuksissa, koska ne ilmentävät erilaisia melanoomaan liittyviä antigeenejä ja ovat alttiita immuunijärjestelmän muokkaukselle. M14-solulinjaa käyttävien tutkijoiden on huomattava, että nämä solut eivät sovellu terapeuttisiin sovelluksiin, vaan ne on tarkoitettu yksinomaan tutkimustarkoituksiin, erityisesti melanooman patofysiologiaan, lääkkeiden seulontaan ja uusien terapeuttisten strategioiden kehittämiseen. M14-solulinja on edelleen keskeinen resurssi, kun pyritään lisäämään ymmärrystä melanoomasta ja tutkimaan uusia hoitokeinoja.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho
Disease	Amelanoottinen melanooma
Metastatic site	Oikea pakara, hypodermis
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanooma 14, M-14

Ominaisuudet

Age	33
Gender	Mies
Ethnicity	Eurooppalainen
Morphology	Fibroblastien kaltaiset
Growth properties	Tarttuva

M14-kennot | 302163

Sääntelytiedot

Citation	M14 (Cytionin luettelonumero 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

M14-kennot | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.