Product sheet

Cellules M14 | 302163

Informations générales

Description	La lignée cellulaire M14 est une lignée cellulaire de mélanome humain dérivée d'une lésion cutanée métastatique d'un patient adulte atteint de mélanome. Cette lignée cellulaire est largement utilisée dans la recherche sur le cancer, en particulier dans l'étude de la biologie du mélanome, de la progression tumorale et de l'évaluation d'agents thérapeutiques potentiels. Les cellules M14 présentent des caractéristiques typiques du mélanome malin, notamment la capacité de former des tumeurs chez des souris immunodéprimées, ce qui en fait un outil précieux pour les études in vivo en plus des expériences in vitro. En termes de caractéristiques moléculaires, les cellules M14 sont porteuses de mutations dans des gènes fréquemment altérés dans le mélanome, notamment le gène BRAF. Plus précisément, les cellules M14 sont porteuses de la mutation BRAF V600E, qui entraîne une activation constitutive de la voie de signalisation MAPK/ERK, favorisant la prolifération et la survie des cellules. Cela fait de M14 un modèle important pour l'étude des thérapies ciblées, telles que les inhibiteurs de BRAF, qui sont conçues pour exploiter cette mutation. En outre, les cellules M14 ont été utilisées dans la recherche sur l'immunothérapie en raison de leur expression de divers antigènes associés au mélanome et de leur sensibilité à la modulation du système immunitaire. Les chercheurs qui utilisent la lignée cellulaire M14 doivent savoir que ces cellules ne conviennent pas à des applications thérapeutiques et sont destinées uniquement à des fins de recherche, en particulier celles qui se concentrent sur la pathophysiologie du mélanome, le criblage de médicaments et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. La lignée cellulaire M14 reste une ressource clé pour faire progresser notre compréhension du mélanome et explorer de nouvelles voies de traitement.
Organism	Humain
Tissue	Peau
Disease	Mélanome amélanotique
Metastatic site	Fesse droite, hypoderme
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoma 14, M-14

Caractéristiques

Age	33
Gender	Homme
Ethnicity	Européen
Morphology	De type fibroblastique

Cellules M14 | 302163

Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	M14 (numéro de catalogue Cytion 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS inactivé à la chaleur
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules M14 | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.