Product sheet

M14 cellák | 302163

Általános információk

Description	Az M14 sejtvonal egy humán melanoma sejtvonal, amely egy felnőtt melanomás beteg metasztatikus bőrelváltozásából származik. Ezt a sejtvonalat széles körben használják a rákkutatásban, különösen a melanoma biológiájának, a tumor progressziójának és a potenciális terápiás szerek értékelésének tanulmányozására. Az M14 sejtek a rosszindulatú melanomára jellemző tulajdonságokkal rendelkeznek, beleértve azt a képességet, hogy immunhiányos egerekben tumorokat képeznek, ami az in vitro kísérletek mellett értékes eszközzé teszi őket az in vivo vizsgálatokhoz. A molekuláris jellemzőket illetően az M14 sejtek olyan gének mutációit hordozzák, amelyek a melanomában gyakran módosulnak, beleértve a BRAF gént is. Konkrétan az M14 sejtek a BRAF V600E mutációt hordozzák, amely a MAPK/ERK jelátviteli útvonal konstitutív aktiválódásához vezet, elősegítve a sejtek proliferációját és túlélését. Ez teszi az M14 sejtet fontos modellé az olyan célzott terápiák, például a BRAF-gátlók tanulmányozásához, amelyeket e mutáció kihasználására terveztek. Ezenkívül az M14 sejteket az immunterápiás kutatásokban is felhasználták, mivel különböző melanomával kapcsolatos antigéneket fejeznek ki, és érzékenyek az immunrendszer modulációjára. Az M14 sejtvonalat használó kutatóknak tudomásul kell venniük, hogy ezek a sejtek nem alkalmasak terápiás alkalmazásra, és kizárólag kutatási célokra szolgálnak, különösen a melanoma patofiziológiájára, a gyógyszerek szűrésére és új terápiás stratégiák kifejlesztésére összpontosító kutatások számára. Az M14 sejtvonal továbbra is kulcsfontosságú erőforrás a melanóma jobb megértéséhez és a kezelés új útjainak feltárásához.
Organism	Emberi
Tissue	Bőr
Disease	Amelanotikus melanoma
Metastatic site	Jobb fenék, hypodermis
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoma 14, M-14, Melanoma 14, M-14

Jellemzők

Age	33
Gender	Férfi
Ethnicity	Európai
Morphology	Fibroblaszt-szerű

M14 cellák | 302163

Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

M14 cellák | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.