

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 krioindukált 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 sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat 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 sejt vonalakat 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.

M14 cellák | 302163

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 / Genetikai profil / HLA

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 sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.