Product sheet

Celle M14 | 302163

Informazioni generali

Description	La linea cellulare M14 è una linea cellulare di melanoma umano derivata da una lesione cutanea metastatica di un paziente adulto affetto da melanoma. Questa linea cellulare è ampiamente utilizzata nella ricerca sul cancro, in particolare nello studio della biologia del melanoma, della progressione tumorale e nella valutazione di potenziali agenti terapeutici. Le cellule M14 presentano caratteristiche tipiche del melanoma maligno, tra cui la capacità di formare tumori in topi immunocompromessi, il che le rende uno strumento prezioso per studi in vivo oltre che per esperimenti in vitro. In termini di caratteristiche molecolari, è stato riportato che le cellule M14 sono portatrici di mutazioni in geni che sono frequentemente alterati nel melanoma, compreso il gene BRAF. In particolare, le cellule M14 ospitano la mutazione BRAF V600E, che porta all'attivazione costitutiva della via di segnalazione MAPK/ERK, promuovendo la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule. Ciò rende le M14 un modello importante per lo studio di terapie mirate, come gli inibitori di BRAF, progettate per sfruttare questa mutazione. Inoltre, le cellule M14 sono state utilizzate nella ricerca sull'immunoterapia grazie alla loro espressione di vari antigeni associati al melanoma e alla loro suscettibilità alla modulazione del sistema immunitario. I ricercatori che utilizzano la linea cellulare M14 devono tenere presente che queste cellule non sono adatte per applicazioni terapeutiche e sono destinate esclusivamente a scopi di ricerca, in particolare quelli incentrati sulla fisiopatologia del melanoma, sullo screening dei farmaci e sullo sviluppo di nuove strategie terapeutiche. La linea cellulare M14 rimane una risorsa fondamentale per far progredire la nostra comprensione del melanoma e per esplorare nuove vie di trattamento.
Organism	Umano
Tissue	La pelle
Disease	Melanoma amelanotico
Metastatic site	Natica destra, ipoderma
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoma 14, M-14

Caratteristiche

Age	33
Gender	Uomo
Ethnicity	Europeo
Morphology	Simile a un fibroblasto

Celle M14 | 302163

Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	M14 (numero di catalogo Cytion 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820700a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS inattivato termicamente
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.