Product sheet

M14 ląstelės | 302163

Bendra informacija

Description	M14 ląstelių linija yra žmogaus melanomos ląstelių linija, gauta iš suaugusio paciento, sergančio melanoma, metastazavusio odos pažeidimo. Ši ląstelių linija plačiai naudojama vėžio tyrimuose, ypač tiriant melanomos biologiją, naviko progresavimą ir vertinant galimus gydomuosius preparatus. M14 ląstelės pasižymi piktybinei melanomai būdingomis savybėmis, įskaitant gebėjimą formuoti navikus imunokompromituotose pelėse, todėl jos yra vertinga priemonė ne tik in vitro eksperimentams, bet ir in vivo tyrimams. Kalbant apie molekulines savybes, pranešta, kad M14 ląstelės turi melanomai dažnai pakitusių genų, įskaitant BRAF geną, mutacijų. Konkrečiai M14 ląstelės turi BRAF V600E mutaciją, dėl kurios konstituciškai aktyvuojamas MAPK/ERK signalinis kelias, skatinantis ląstelių proliferaciją ir išgyvenamumą. Dėl to M14 yra svarbus modelis tiksliniams gydymo būdams, pavyzdžiui, BRAF inhibitoriams, skirtiems šiai mutacijai išnaudoti, tirti. Be to, M14 ląstelės buvo naudojamos imunoterapijos tyrimams, nes jose yra įvairių su melanoma susijusių antigenų ir jos yra jautrios imuninės sistemos moduliacijai. Mokslininkai, naudojantys M14 ląstelių liniją, turėtų atkreipti dėmesį į tai, kad šios ląstelės nėra tinkamos naudoti terapijoje ir yra skirtos tik moksliniams tyrimams, ypač tiems, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama melanomos patofiziologijai, vaistų atrankai ir naujų gydymo strategijų kūrimui. M14 ląstelių linija išlieka svarbiu šaltiniu, padedančiu geriau suprasti melanomą ir ieškoti naujų gydymo būdų.
Organism	Žmogus
Tissue	Odos
Disease	Amelanotinė melanoma
Metastatic site	Dešinysis sėdmuo, poodis
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoma 14, M-14

Charakteristikos

Age	33
Gender	Vyras
Ethnicity	Europos
Morphology	Į fibroblastus panašus
Growth properties	Prigludęs

Product sheet

M14 ląstelės | 302163

Reguliavimo duomenys

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

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

M14 ląstelės | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.