

M14 Cellen | 302163

Algemene informatie

Description

De M14-celijn is een menselijke melanoomcelijn afkomstig van een uitgezaaide huidlaesie van een volwassen patiënt met melanoom. Deze celijn wordt veel gebruikt in kankeronderzoek, met name voor het bestuderen van de biologie van melanoom, tumorgroei en de evaluatie van potentiële therapeutische middelen. M14-cellen vertonen kenmerken die typisch zijn voor kwaadaardig melanoom, waaronder het vermogen om tumoren te vormen in immuungecompromitteerde muizen, waardoor ze naast in-vitro-experimenten een waardevol hulpmiddel zijn voor in-vivo-onderzoek.

In termen van moleculaire kenmerken is gemeld dat M14-cellen mutaties dragen in genen die vaak veranderen bij melanoom, waaronder het BRAF-gen. Meer specifiek hebben M14-cellen de BRAF V600E-mutatie, die leidt tot constitutieve activering van de MAPK/ERK-signaleringsroute, waardoor celproliferatie en -overleving worden bevorderd. Hierdoor is M14 een belangrijk model voor het bestuderen van doelgerichte therapieën, zoals BRAF-remmers, die zijn ontworpen om deze mutatie te benutten. Daarnaast zijn M14-cellen gebruikt in onderzoek naar immuuntherapie vanwege hun expressie van verschillende melanoom-geassocieerde antigenen en gevoeligheid voor modulatie van het immuunsysteem.

Onderzoekers die gebruik maken van de M14 celijn moeten er rekening mee houden dat deze cellen niet geschikt zijn voor therapeutische toepassingen en uitsluitend bedoeld zijn voor onderzoeksdoeleinden, met name die welke zich richten op de pathofysiologie van melanoom, het screenen van geneesmiddelen en de ontwikkeling van nieuwe therapeutische strategieën. De M14 celijn blijft een belangrijke bron voor het bevorderen van ons begrip van melanoom en het verkennen van nieuwe wegen voor behandeling.

Organism

Mens

Tissue

Huid

Disease

Amelanotisch melanoom

Metastatic site

Rechterbil, hypodermis

Synonyms

M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoom 14, M-14

Kenmerken

Age

33

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Europese

Morphology

Fibroblast-achtige

M14 Cellen | 302163

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation M14 (Cytion catalogusnummer 302163)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1395

Biomoleculaire gegevens**Omgaan met**

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% hitte-geïnactiverde FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

M14 Cellen | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

M14 Cellen | 302163

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.