Product sheet

M14-celler | 302163

Generell informasjon

Description	M14-cellelinjen er en human melanomcellelinje som stammer fra en metastatisk hudlesjon fra en voksen pasient med melanom. Denne cellelinjen er mye brukt i kreftforskning, særlig i studier av melanomets biologi, tumorprogresjon og evaluering av potensielle terapeutiske midler. M14-celler har egenskaper som er typiske for malignt melanom, blant annet evnen til å danne svulster i immunkompromitterte mus, noe som gjør dem til et verdifullt verktøy for in vivo-studier i tillegg til in vitro-eksperimenter. Når det gjelder molekylære egenskaper, er det rapportert at M14-celler bærer mutasjoner i gener som ofte endres i melanom, deriblant BRAF-genet. M14-celler har BRAF V600E-mutasjonen, som fører til konstitutiv aktivering av MAPK/ERK-signalveien, noe som fremmer celleproliferasjon og -overlevelse. Dette gjør M14 til en viktig modell for å studere målrettede terapier, for eksempel BRAF-hemmere, som er utviklet for å utnytte denne mutasjonen. I tillegg har M14-celler blitt brukt i immunterapiforskning fordi de uttrykker ulike melanom-assosierte antigener og er mottakelige for modulering av immunsystemet. Forskere som bruker M14-cellelinjen, bør merke seg at disse cellene ikke egner seg til terapeutisk bruk, og at de kun er ment for forskningsformål, særlig med fokus på patofysiologi ved melanom, screening av legemidler og utvikling av nye behandlingsstrategier. M14-cellelinjen er fortsatt en viktig ressurs for å øke vår forståelse av melanom og utforske nye behandlingsmuligheter.
Organism	Menneskelig
Tissue	Hud
Disease	Amelanotisk melanom
Metastatic site	Høyre sete, underhuden
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoma 14, M-14

Kjennetegn

Age	33
Gender	Mann
Ethnicity	Europeisk
Morphology	Fibroblastlignende
Growth properties	Vedhengende

M14-celler | 302163

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.