

## Ogniwa M14 | 302163

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa M14 to ludzka linia komórkowa czerniaka pochodząca z przerzutowej zmiany skórnej u dorosłego pacjenta z czerniakiem. Ta linia komórkowa jest szeroko stosowana w badaniach nad rakiem, w szczególności w badaniach biologii czerniaka, progresji guza i oceny potencjalnych środków terapeutycznych. Komórki M14 wykazują cechy typowe dla czerniaka złośliwego, w tym zdolność do tworzenia guzów u myszy z obniżoną odpornością, co czyni je cennym narzędziem do badań in vivo oprócz eksperymentów in vitro.

Pod względem cech molekularnych, komórki M14 są nosicielami mutacji w genach, które są często zmieniane w czerniaku, w tym w genie BRAF. W szczególności, komórki M14 są nosicielami mutacji BRAF V600E, która prowadzi do konstytutywnej aktywacji szlaku sygnałowego MAPK/ERK, promując proliferację i przeżycie komórek. Sprawia to, że komórki M14 są ważnym modelem do badania terapii celowanych, takich jak inhibitory BRAF, które zostały zaprojektowane w celu wykorzystania tej mutacji. Dodatkowo, komórki M14 zostały wykorzystane w badaniach nad immunoterapią ze względu na ekspresję różnych antygenów związanych z czerniakiem i podatność na modulację układu odpornościowego.

Badacze korzystający z linii komórkowej M14 powinni pamiętać, że komórki te nie nadają się do zastosowań terapeutycznych i są przeznaczone wyłącznie do celów badawczych, w szczególności tych koncentrujących się na patofizjologii czerniaka, badaniach przesiewowych leków i opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych. Linia komórkowa M14 pozostaje kluczowym źródłem wiedzy na temat czerniaka i odkrywania nowych sposobów leczenia.

## Organism

Człowiek

## Tissue

Skóra

## Disease

Czerniak amelanotyczny

## Metastatic site

Prawy pośladek, podskórze

## Synonyms

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

## Charakterystyka

## Age

33

## Gender

Męczyzna

## Ethnicity

Europejski

## Morphology

Podobny do fibroblastów

## Ogniwa M14 | 302163

<b>Growth properties</b>	Adherent
--------------------------	----------

## Dane regulacyjne

<b>Citation</b>	M14 (numer katalogowy Cytion 302163)
-----------------	--------------------------------------

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1395
-----------------------------	-----------

## Dane biomolekularne

## Obsługa

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie
--------------------	--

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

## Ogniwa M14 | 302163

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Ogniwa M14 | 302163

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.