Product sheet

Células M14 | 302163

Informações gerais

Description	A linha celular M14 é uma linha celular de melanoma humano derivada de uma lesão cutânea metastática de um doente adulto com melanoma. Esta linha celular é amplamente utilizada na investigação do cancro, em particular no estudo da biologia do melanoma, na progressão do tumor e na avaliação de potenciais agentes terapêuticos. As células M14 apresentam caraterísticas típicas do melanoma maligno, incluindo a capacidade de formar tumores em ratinhos imunocomprometidos, o que as torna uma ferramenta valiosa para estudos in vivo, para além de experiências in vitro. Em termos de caraterísticas moleculares, foi relatado que as células M14 são portadoras de mutações em genes que são frequentemente alterados no melanoma, incluindo o gene BRAF. Especificamente, as células M14 são portadoras da mutação BRAF V600E, que leva à ativação constitutiva da via de sinalização MAPK/ERK, promovendo a proliferação e a sobrevivência das células. Isto faz da M14 um modelo importante para o estudo de terapias direcionadas, como os inibidores BRAF, concebidos para explorar esta mutação. Além disso, as células M14 têm sido utilizadas na investigação da imunoterapia devido à sua expressão de vários antigénios associados ao melanoma e à sua suscetibilidade à modulação do sistema imunitário. Os investigadores que utilizam a linha celular M14 devem ter em conta que estas células não são adequadas para aplicações terapêuticas e que se destinam exclusivamente a fins de investigação, em especial os que se centram na fisiopatologia do melanoma, no rastreio de medicamentos e no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. A linha celular M14 continua a ser um recurso fundamental para o avanço da nossa compreensão do melanoma e para a exploração de novas vias de tratamento.
Organism	Humano
Tissue	Pele
Disease	Melanoma amelanótico
Metastatic site	Nádega direita, hipoderme
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoma 14, M-14

Caraterísticas

Age	33
Gender	Masculino
Ethnicity	Europeu
Morphology	Tipo fibroblastos

Product sheet

Células M14 | 302163

Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	M14 (número de catálogo Cytion 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Dados biomoleculares

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS inactivado pelo calor
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células M14 | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.