

Celule M14 | 302163

Informații generale

Description

Linia celulară M14 este o linie celulară de melanom uman derivată dintr-o leziune cutanată metastatică a unui pacient adult cu melanom. Această linie celulară este utilizată pe scară largă în cercetarea cancerului, în special în studiul biologiei melanomului, al progresiei tumorale și al evaluării potențialilor agenți terapeutici. Celulele M14 prezintă caracteristici tipice ale melanomului malign, inclusiv capacitatea de a forma tumori la șoarecii imunocompromiși, ceea ce le face un instrument valoros pentru studiile in vivo, pe lângă experimentele in vitro.

În ceea ce privește caracteristicile moleculare, s-a raportat că celulele M14 poartă mutații în gene care sunt frecvent modificate în melanom, inclusiv gena BRAF. Mai exact, celulele M14 poartă mutația BRAF V600E, care duce la activarea constitutivă a căii de semnalizare MAPK/ERK, promovând proliferarea și supraviețuirea celulară. Acest lucru face din celulele M14 un model important pentru studierea terapiei țintite, cum ar fi inhibitorii BRAF, care sunt concepute pentru a exploata această mutație. În plus, celulele M14 au fost utilizate în cercetarea imunoterapiei datorită exprimării diferitelor antigene asociate melanomului și susceptibilității la modularea sistemului imunitar.

Cercetătorii care utilizează linia celulară M14 trebuie să țină seama de faptul că aceste celule nu sunt adecvate pentru aplicații terapeutice și sunt destinate exclusiv cercetării, în special celor care se concentrează pe fiziopatologia melanomului, screening-ul medicamentelor și dezvoltarea de noi strategii terapeutice. Linia celulară M14 rămâne o resursă esențială pentru avansarea înțelegerii melanomului și explorarea unor noi căi de tratament.

Organism

Om

Tissue

Piele

Disease

Melanom amelanotic

Metastatic site

Fesa dreaptă, hipoderm

Synonyms

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

Caracteristici

Age

33

Gender

Masculin

Ethnicity

Europeană

Morphology

Fibroblast-like

Celule M14 | 302163

Growth properties	Aderent
--------------------------	---------

Date de reglementare

Citation	M14 (număr de catalog Cytion 302163)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1395
-----------------------------	-----------

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS inactivat termic
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
---------------------	--

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
----------------------	---

Celule M14 | 302163**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule M14 | 302163

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.