Product sheet

Bunky M14 | 302163

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia M14 je ľudská melanómová bunková línia odvodená z metastatickej kožnej lézie dospelého pacienta s melanómom. Táto bunková línia sa široko používa vo výskume rakoviny, najmä pri štúdiu biológie melanómu, progresie nádoru a hodnotení potenciálnych terapeutických látok. Bunky M14 vykazujú vlastnosti typické pre malígny melanóm vrátane schopnosti vytvárať nádory v imunokompromitovaných myšiach, čo z nich robí cenný nástroj na štúdie in vivo popri experimentoch in vitro. Pokiaľ ide o molekulárne vlastnosti, bolo zistené, že bunky M14 nesú mutácie v génoch, ktoré sa často menia pri melanóme, vrátane génu BRAF. Konkrétne bunky M14 obsahujú mutáciu BRAF V600E, ktorá vedie ku konštitutívnej aktivácii signálnej dráhy MAPK/ERK, čím podporuje proliferáciu a prežívanie buniek. To robí z buniek M14 dôležitý model na štúdium cielených terapií, ako sú inhibítory BRAF, ktoré sú navrhnuté tak, aby využívali túto mutáciu. Okrem toho sa bunky M14 využívajú vo výskume imunoterapie vzhľadom na ich expresiu rôznych antigénov súvisiacich s melanómom a náchylnosť na moduláciu imunitného systému. Výskumníci, ktorí používajú bunkovú líniu M14, by si mali uvedomiť, že tieto bunky nie sú vhodné na terapeutické použitie a sú určené výlučne na výskumné účely, najmä na účely zamerané na patofyziológiu melanómu, skríning liekov a vývoj nových terapeutických stratégií. Bunková línia M14 zostáva kľúčovým zdrojom na zlepšenie nášho chápania melanómu a skúmanie nových možností liečby.
Organism	Ľudské
Tissue	Koža
Disease	Amelanotický melanóm
Metastatic site	Pravý zadok, podkožie
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Melanoma 14, M-14

Charakteristika

Age	33
Gender	Muži
Ethnicity	Európska
Morphology	Fibroblastom podobné
Growth properties	Adherent

Product sheet

Bunky M14 | 302163

Regulačné údaje

Citation	M14 (katalógové číslo Cytion 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Biomolekulárne údaje

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky M14 | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.