

Клітини M14 | 302163

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія M14 - це лінія клітин меланоми людини, отримана з метастатичного ураження шкіри дорослого пацієнта з меланою. Ця клітинна лінія широко використовується в дослідженнях раку, зокрема у вивченні біології меланоми, прогресії пухлини та оцінці потенційних терапевтичних агентів. Клітини M14 мають характеристики, характерні для злоякісної меланоми, включаючи здатність утворювати пухлини у мишей з ослабленим імунітетом, що робить їх цінним інструментом для досліджень *in vivo* на додаток до експериментів *in vitro*.

З точки зору молекулярних особливостей, клітини M14 несуть мутації в генах, які часто змінюються при меланомі, в тому числі в гені BRAF. Зокрема, клітини M14 містять мутацію BRAF V600E, яка призводить до конститутивної активації сигнального шляху MAPK/ERK, що сприяє проліферації та виживанню клітин. Це робить M14 важливою моделлю для вивчення таргетної терапії, наприклад, інгібіторів BRAF, які призначені для використання цієї мутації. Крім того, клітини M14 використовуються в дослідженнях імунотерапії завдяки експресії ними різних антигенів, пов'язаних з меланою, і чутливості до модуляції імунної системи.

Дослідники, які використовують клітинну лінію M14, повинні враховувати, що ці клітини не придатні для терапевтичного застосування і призначені виключно для дослідницьких цілей, зокрема для вивчення патофізіології меланоми, скринінгу лікарських препаратів і розробки нових терапевтичних стратегій. Клітинна лінія M14 залишається ключовим ресурсом для поглиблення нашого розуміння меланоми та пошуку нових шляхів лікування.

Organism Людина

Tissue Шкіра

Disease Амеланотична меланома

Metastatic site Права сідниця, підшкірна клітковина

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

Характеристики

Age 33

Gender Чоловік

Ethnicity Європейський

Morphology Фібробластоподібні

Клітини M14 | 302163

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation M14 (номер за каталогом Cytion 302163)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1395

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини M14 | 302163

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.