Product sheet

Cellules M14 | 302163

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire M14 est une lignée cellulaire de mélanome humain dérivée d'une lésion cutanée métastatique chez un patient adulte atteint d'un mélanome. Cette lignée cellulaire est largement utilisée dans la recherche sur le cancer, en particulier dans l'étude de la biologie du mélanome, de la progression tumorale et de l'évaluation d'agents thérapeutiques potentiels. Les cellules M14 présentent les caractéristiques typiques du mélanome malin, notamment la capacité de former des tumeurs chez des souris immunodéprimées, ce qui en fait un outil précieux pour les études in vivo en plus des expériences in vitro. Sur le plan moléculaire, il a été rapporté que les cellules M14 portent des mutations dans des gènes fréquemment altérés dans le mélanome, notamment le gène BRAF. Plus précisément, les cellules M14 hébergent la mutation BRAF V600E, qui entraîne l'activation constitutive de la voie de signalisation MAPK/ERK, favorisant ainsi la prolifération et la survie cellulaires. Cela fait de la lignée M14 un modèle important pour l'étude des thérapies ciblées, telles que les inhibiteurs de BRAF, conçues pour exploiter cette mutation. De plus, les cellules M14 ont été utilisées dans la recherche en immunothérapie en raison de leur expression de divers antigènes associés au mélanome et de leur sensibilité à la modulation du système immunitaire. Les chercheurs utilisant la lignée cellulaire M14 doivent noter que ces cellules ne conviennent pas à des applications thérapeutiques et sont destinées exclusivement à des fins de recherche, en particulier celles axées sur la physiopathologie du mélanome, le criblage de médicaments et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. La lignée cellulaire M14 demeure une ressource essentielle pour faire progresser notre compréhension du mélanome et explorer de nouvelles voies de traitement.
Organism	Humain
Tissue	Peau
Disease	Mélanome amélanotique
Metastatic site	Fesse droite, hypoderme
Synonyms	M14-MEL, UCLA-SO-M14, UCLA SO M14, UCLA-SO-14, UCLASO-M14, Mélanome 14, M-14

Caractéristiques

Age	33
Gender	Homme
Ethnicity	européen
Morphology	De type fibroblaste

Cellules M14 | 302163

Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	M14 (numéro de catalogue Cytion 302163)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1395

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de sérum fœtal bovin (FBS) inactivé par la chaleur
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules M14 | 302163

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.