Product sheet

Células M14 | 302163

Informações gerais

Description	A linhagem celular M14 é uma linhagem de células de melanoma humano derivada de uma lesão cutânea metastática de um paciente adulto com melanoma. Essa linha celular é amplamente utilizada na pesquisa sobre o câncer, particularmente no estudo da biologia do melanoma, da progressão tumoral e na avaliação de potenciais agentes terapêuticos. As células M14 apresentam características típicas do melanoma maligno, incluindo a capacidade de formar tumores em camundongos imunocomprometidos, o que as torna uma ferramenta valiosa para estudos in vivo, além de experimentos in vitro. Em termos de características moleculares, foi relatado que as células M14 apresentam mutações em genes frequentemente alterados no melanoma, incluindo o gene BRAF. Especificamente, as células M14 apresentam a mutação BRAF V600E, que leva à ativação constitutiva da via de sinalização MAPK/ERK, promovendo a proliferação e a sobrevivência celular. Isso torna a M14 um importante modelo para o estudo de terapias direcionadas, como os inibidores de BRAF, que são projetadas para explorar essa mutação. Além disso, as células M14 têm sido utilizadas em pesquisas de imunoterapia devido à sua expressão de vários antígenos associados ao melanoma e à sua suscetibilidade à modulação do sistema imunológico. Pesquisadores que utilizam a linhagem celular M14 devem observar que essas células não são adequadas para aplicações terapêuticas e destinam-se exclusivamente a fins de pesquisa, particularmente aqueles focados na fisiopatologia do melanoma, na triagem de medicamentos e no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. A linhagem celular M14 continua sendo um recurso fundamental para aprofundar nossa compreensão do melanoma e explorar novos caminhos para o 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

Características

Age	33
Gender	Masculino
Ethnicity	Europeu
Morphology	Semelhante a fibroblastos

Células M14 | 302163

Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

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

Dados biomoleculares

Manuseio

Culture Medium	RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion: 820700a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS inativado por calor
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células M14 | 302163

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente. 6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual. 7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes. 8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.