

MV3-rakud | 305495

Üldine teave

Description

MV3-rakuliin on inimese melanoomi mudel, mis on loodud amelanotilise melanoomiga meespatsiendi metastaatilise lümfisõlme põhjal. See rakuliin on väga metastaatiline ja tuumorigeenne, mistõttu on see oluline ressurss melanoomi progresseerumise ja metastaaside uurimiseks. MV3-rakkudel on märkimisväärsed invasiivsed omadused, mida toetab nende tugev võime lagundada ekstratsellulaarse matriksi komponente. Seda võimet vahendab urokinase-tüüpi plasminogeeni aktivaatori (u-PA) signaalitee ja selle regulatsioon plasminogeeni aktivaatori inhibiitorite (PAI-1 ja PAI-2) poolt. MV3-rakke iseloomustab metastaasidega seotud markerite, nagu integriinide (nt VLA-2) ja kasvufaktorireseptorite ekspressioon, mis on seotud nende agressiivse fenotüübiga.

Ksenotransplantaadi mudelites tekitavad MV3-rakud kiiresti kasvaja ja neil esineb sageli spontaanseid metastaase, eriti kopsudesse. Need omadused on olnud kesksel kohal prekliinilistes uuringutes, mille eesmärk on selgitada välja melanoomi leviku ja raviresistentsuse aluseks olevaid mehhanisme. Alastitel hiirtel säilitavad MV3-kasvaja algse patsiendilt pärineva kasvaja histoloogilised tunnused, sealhulgas kõrge mitootiline aktiivsus ja piiratud pigmentatsioon. MV3-rakkude prokoagulantseid omadusi soodustavad veelgi nende metastaatilist käitumist, kuna need rakud ilmutavad koefaktori aktiivsust ja suudavad protrombiini otse trombiiniks aktiveerida, tugevdades seeläbi vastastikmõjusid kasvaja mikrokeskkonnaga.

MV3-d on kasutatud ka uuringutes, mis keskenduvad rakupinna molekulide rollile ja nende regulatsioonile melanoomi metastaaside tekkes. Näiteks ekspresseerib see rakuliin märkimisväärses koguses rakkudevahelist adhesiivmolekuli-1 (ICAM-1) ja epidermaalset kasvufaktori retseptorit (EGFR), mis on seotud suurenenud metastaasipotentsiaaliga. See mudel on jätkuvalt oluline sihtterapiate hindamisel ja melanoomi pahaloomulisuse molekulaarsete tegurite mõistmisel.

Organism Inimene

Tissue Nahk

Disease Amelanootiline melanoom

Metastatic site Lümfisõlm

Synonyms MV-3, MV 3

Omadused

Age 76 aastat

Gender Mees

Ethnicity Täpsustamata

Morphology Epiteelilaadsed

MV3-rakud | 305495

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

MV3 (Cytion kataloognumber 305495)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_W280

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements

Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloognumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

MV3-rakud | 305495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

MV3-rakud | 305495

Sterility

Mükoplasma kontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.