

MV3-solut | 305495

Yleisiä tietoja

Description

MV3-solulinja on ihmisen melanoomamalli, joka on peräisin amelanotisen melanooman sairastaneen miespotilaan metastaattisesta imusolmukkeesta. Tämä solulinja on erittäin metastaattinen ja tuumorigeeninen, minkä vuoksi se on keskeinen resurssi melanooman etenemisen ja etäpesäkkeiden tutkimuksessa. MV3-soluilla on merkittäviä invasiivisia ominaisuuksia, joita tukee niiden vahva kyky hajottaa solunulkoisen matriisin komponentteja. Tämä kyky välittyy urokinasi-tyyppisen plasminogeeniaktivaattorin (u-PA) reitin kautta ja sen säätelyn kautta plasminogeeniaktivaattorin estäjillä (PAI-1 ja PAI-2). MV3-soluille on ominaista metastaaseihin liittyvien merkkiaineiden, kuten integriinien (esim. VLA-2) ja kasvutekijän reseptorien, ilmentyminen, jotka liittyvät niiden aggressiiviseen fenotyyppiin.

Ksenotransplantaattimalleissa MV3-solut muodostavat nopeasti kasvaimia ja niillä esiintyy usein spontaaneja etäpesäkkeitä, erityisesti keuhkoihin. Nämä ominaisuudet ovat olleet keskeisiä prekliinisessä tutkimuksessa, jonka tavoitteena on selvittää melanooman leviämisen ja hoitoresistenssin taustalla olevia mekanismeja. Alastomissa hiirissä esiintyvät MV3-kasvaimet säilyttävät potilaalta peräisin olevan alkuperäisen kasvaimen histologiset piirteet, mukaan lukien korkean mitoositoiminnan ja rajoitetun pigmentaation. MV3-solujen hyytymistä edistävät ominaisuudet edistävät entisestään niiden metastaattista käyttäytymistä, sillä ne ilmentävät kudostekijän aktiivisuutta ja voivat aktivoida protrombiinin suoraan trombiiniksi, mikä tehostaa vuorovaikutusta kasvaimen mikroympäristön kanssa.

MV3-solulinjaa on käytetty myös tutkimuksissa, joissa on keskitytty solupintamolekyylien rooliin ja niiden säätelyyn melanooman etäpesäkkeiden muodostumisessa. Esimerkiksi solulinja ilmentää merkittäviä määriä solujen välistä adheesiomolekyyliä 1 (ICAM-1) ja epidermaalisia kasvutekijän reseptoreita (EGFR), jotka liittyvät lisääntyneeseen etäpesäkepotentiaaliin. Malli on edelleen keskeisessä asemassa kohdennettujen hoitojen arvioinnissa ja melanooman pahanlaatuisuuden molekyylitason tekijöiden ymmärtämisessä.

Organism

Ihminen

Tissue

Iho

Disease

Amelanootinen melanooma

Metastatic site

Imusolmuke

Synonyms

MV-3, MV 3

Ominaisuudet

Age

76 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Määrittelemätön

MV3-solut | 305495

Morphology Epiteelin kaltainen**Growth properties** Tarttuva

Säätelytiedot

Citation MV3 (Cytionin tuotenumero 305495)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_W280

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

MV3-solut | 305495

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

MV3-solut | 305495

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.