Product sheet

MV3 šūnas | 305495

Vispārīga informācija

Description	MV3 šūnu līnija ir cilvēka melanomas modelis, kas izveidots no metastātiska limfmezgla, kas iegūts no vīrieša pacienta ar amelanotisko melanomu. Šī šūnu līnija ir ļoti metastātiska un tumorogēna, tādēļ tā ir būtisks resurss melanomas progresēšanas un metastāžu izpētei. MV3 šūnām piemīt ievērojamas invazīvās īpašības, ko veicina to spēcīgā spēja noārdīt ekstracelulārās matricas komponentus. Šo spēju nodrošina urokināzes tipa plazminogēna aktivatora (u-PA) ceļš un tā regulēšana ar plazminogēna aktivatora inhibitoriem (PAI-1 un PAI-2). MV3 šūnas raksturo ar tām raksturīgo metastāzēm saistīto marķieru ekspresiju, piemēram, integrīnu (piem., VLA-2) un augšanas faktoru receptoru, kas ir saistīti ar to agresīvo fenotipu. Ksenotransplantātu modeļos MV3 šūnas parāda strauju audzēja veidošanos un augstu spontāno metastāžu sastopamību, īpaši plaušās. Šīs īpašības ir bijušas izšķirošas pirmsklīniskajos pētījumos, kuru mērķis ir atklāt mehānismus, kas ir melanomas izplatīšanās un rezistences pret terapiju pamatā. MV3 audzēji kailpeles pelēm saglabā sākotnējā, no pacienta iegūtā audzēja histoloģiskās pazīmes, tostarp augstu mitotisko aktivitāti un ierobežotu pigmentāciju. MV3 šūnu prokoagulantu īpašības vēl vairāk veicina to metastātisko uzvedību, jo tām piemīt audu faktora aktivitāte un tās spēj tieši aktivēt protrombīnu, pārvēršot to trombīnā, tādējādi pastiprinot mijiedarbību ar audzēja mikrovidē. MV3 ir izmantota arī pētījumos, kas vērsti uz šūnu virsmas molekulu lomu un to regulāciju melanomas metastāzē. Piemēram, šī šūnu līnija izsaka ievērojamus starpšūnu adhezijas molekulas-1 (ICAM-1) un epidermālā augšanas faktora receptora (EGFR) līmeņus, kas ir saistīti ar paaugstinātu metastātisko potenciālu. Šis modelis joprojām ir būtisks līdzeklis mērķtiecīgu terapiju novērtēšanā un melanomas ļaundabīguma molekulāro cēloņu izpratnē.
Organism	Cilvēks
Tissue	Āda
Disease	Amelanotiskā melanoma
Metastatic site	Limfmezgls
Synonyms	MV-3, MV 3

Raksturojums

Age	76 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Nav norādīts
Morphology	Epitēlijveidīgs

MV3 šūnas | 305495

Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	MV3 (Cytion kataloga numurs 305495)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_W280

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	2–4 × 10^4/cm^2
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.