Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Обща информация

Description	MDA-MB-231-GFP е флуоресцентно маркиран вариант на широко използваната клетъчна линия MDA-MB-231 на човешки рак на гърдата, модифицирана да експресира зелен флуоресцентен протеин (GFP) чрез лентивирусна трансдукция. Тази модификация позволява визуализация и количествено определяне в реално време на динамиката на туморните клетки както in vitro, така и in vivo, което улеснява подробния анализ на взаимодействията между тумора и стромата, клетъчната пролиферация и метастатичното поведение. Първоначалната линия MDA-MB-231 произхожда от плеврален излив на пациент с тройно-негативен рак на гърдата (TNBC) и проявява агресивно, инвазивно поведение с мезенхимен фенотип, което я превръща в основен модел за изучаване на патофизиологията на TNBC и резистентността към лечение. В експерименти със съвместна култура с човешки мезенхимни стволови/стромални клетки (MSCs) клетките MDA-MB-231-GFP демонстрираха значително засилена пролиферация и туморостимулиращо поведение. Проучванията показаха, че директният контакт с MSCs, а не само разтворимите фактори, е от решаващо значение за този ефект. По-конкретно, съвместната култура с MSC доведе до 39,5% увеличение на пролиферацията на MDA-MB-231-GFP клетките след четири дни в сравнение с монокултурата и индуцира експресия на CD90 върху подгрупа от клетките на рака на гърдата — маркер, който не се експресира при стандартни условия. Тази индуцирана от МСК експресия на CD90 изискваше пряко взаимодействие между клетките и беше частично инхибирана чрез блокиране на гап-съединенията или Notch сигнализацията, което показва участието на специфични пътища за междуклетъчна комуникация. In vivo, съвместното инжектиране на MDA-MB-231-GFP клетки с МСК в имунодефицитни мишки NOD/scid доведе до приблизително десетократно увеличение на обема на тумора и повишен метастатичен потенциал в сравнение с инжектирането само на ракови клетки. Тези тумори проявяваха повишена васкуларизация и по-висока жизнеспособност и запазваха малка CD90-позитивна популация, което потвърждава резултатите in vitro. Като цяло тези проучвания позиционират MDA-MB-231-GFP като надежден модел за изследване на взаимодействията между тумор и строма, индуцираната от МСК фенотипна пластичност и механизмите на туморната прогресия при тройно-негативния рак на гърдата. **Генетична модификация:** Стабилно модифицирана чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция за експресия на репортерния зелен флуоресцентен протеин ZsGreen1; поддържана като поликлонална популация при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Ниво на биологична безопасност S1/BSL-1.
Organism	Човек
Tissue	Метастатичен
Disease	Аденокарцином на гърдата
Metastatic site	Плеврален излив

Характеристики

MDA-MB-231-GFP | 305691

Age	51 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Епителиален
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	MDA-MB-231-GFP (каталожен номер 305691 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегриран репортер на зеления флуоресцентен протеин ZsGreen1, въведен чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (зелен флуоресцентен протеин)
Mutational profile	Мутация: p.Gly464Val, хетерозиготна; Мутация: p.Gly13Asp, хетерозиготна; Мутация: p.Arg280Lys, хомозиготна

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 1,6 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a)

MDA-MB-231-GFP | 305691

Supplements	Допълнете средата с 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.
Thawing and Culturing Cells	1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането. 2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране. 3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка. 4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол. 5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване. 7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ