

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, проектирана 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*, улеснявайки подробния анализ на взаимодействията между тумора и стромата, клетъчната пролиферация и метастатичното поведение. Родителската 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 прави основен модел за изучаване на патофизиологията на TNBC и резистентността към лечение.

В експерименти за съвместна култура с човешки мезенхимни стволови/стромални клетки (MSCs), MDA-MB-231-GFP клетките са показали значително повишена пролиферация и туморогенно поведение. Проучванията показват, че директният контакт с MSC, 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 клетки след четири дни в сравнение с монокултурата и индуцира експресия на CD90 върху подгрупа от ракови клетки на гърдата – маркер, който не се експресира при стандартни условия. Тази индуцирана от MSC експресия на CD90 изисква директно взаимодействие между клетките и беше частично инхибирана чрез блокиране на гап-съединенията или Notch сигнализацията, което показва участието на специфични междуклетъчни комуникационни пътища.

In vivo, съвместното инжектиране на MDA-MB-231-GFP клетки с MSC в имунодефицитни NOD/scid мишки доведе до приблизително десетократно увеличение на обема на тумора и повишен метастатичен потенциал в сравнение с инжектирането само на ракови клетки. Тези тумори показаха повишена васкуларизация и по-висока жизнеспособност и запазиха малка CD90-позитивна популация, което потвърди резултатите *in vitro*. Като цяло, тези проучвания позиционират MDA-MB-231-GFP като надежден модел за изследване на взаимодействията между тумора и стромата, индуцираната от MSC фенотипна пластичност и механизмите на туморна прогресия при тройно-негативен рак на гърдата.

Organism

Човек

Tissue

Метастатичен

Disease

Аденокарцином на гърдата

Metastatic site

Плеврален излив

Характеристики

Age

51 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

MDA-MB-231-GFP | 305691**Morphology** Епителиален**Growth properties** Придържачи 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 линия на човешки карцином на гърдата MDA-MB-231 съдържа GFP конструкт за флуоресцентно наблюдение на инвазивното поведение. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.**Биомолекулярни данни****Protein expression** GFP**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)**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.

MDA-MB-231-GFP | 305691

**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

MDA-MB-231-GFP | 305691

**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 / Генетичен профил / HLA