Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Obecné informace

Description	MDA-MB-231-GFP je fluorescenčně značená varianta široce používané lidské buněčné linie rakoviny prsu MDA-MB-231, která byla geneticky upravena tak, aby prostřednictvím lentivirové transdukce exprimovala zelený fluorescenční protein (GFP). Tato modifikace umožňuje vizualizaci a kvantifikaci dynamiky nádorových buněk v reálném čase jak in vitro, tak in vivo, což usnadňuje podrobnou analýzu interakcí mezi nádorem a stromou, buněčné proliferace a metastatického chování. Původní buněčná linie MDA-MB-231 pochází z pleurálního výpotku pacientky s trojnásobně negativním karcinomem prsu (TNBC) a vykazuje agresivní, invazivní chování s mezenchymálním fenotypem, což z ní činí základní model pro studium patofyziologie TNBC a rezistence na léčbu. V experimentech s ko-kulturou s lidskými mezenchymálními kmenovými/stromálními buňkami (MSC) vykazovaly buňky MDA-MB-231-GFP významně zvýšenou proliferaci a chování podporující růst nádoru. Studie ukázaly, že pro tento účinek je rozhodující přímý kontakt s MSC, nikoli pouze rozpustné faktory. Konkrétně vedla společná kultivace s MSC po čtyřech dnech k 39,5% nárůstu proliferace buněk MDA-MB-231-GFP ve srovnání s monokulturou a vyvolala expresi CD90 na podskupině buněk rakoviny prsu – což je marker, který se za standardních podmínek nevyjadřuje. Tato MSC-indukovaná exprese CD90 vyžadovala přímou interakci mezi buňkami a byla částečně potlačena blokováním gap junctionů nebo Notchové signalizace, což naznačuje zapojení specifických mezibuněčných komunikačních drah. In vivo vedla společná injekce buněk MDA-MB-231-GFP a MSC do imunodeficientních myší NOD/scid k přibližně desetinásobnému zvýšení objemu nádoru a zvýšenému metastatickému potenciálu ve srovnání s injekcí samotných rakovinných buněk. Tyto nádory vykazovaly zvýšenou vaskularizaci a vyšší životaschopnost a zachovaly si menšinovou populaci pozitivní na CD90, což potvrzuje nálezy in vitro. V souhrnu tyto studie řadí MDA-MB-231-GFP mezi robustní modely pro zkoumání interakcí mezi nádorem a stromou, fenotypové plasticity indukované MSC a mechanismů progrese nádoru u trojnásobně negativního karcinomu prsu. **Genetická modifikace:** Stabilně modifikováno replikačně nekompetentní lentivirovou transdukcí k expresi reportéru zeleného fluorescenčního proteinu ZsGreen1; udržováno jako polyklonální populace pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.
Organism	Člověk
Tissue	Metastatické
Disease	Adenokarcinom prsu
Metastatic site	Pleurální výpotek

Charakteristika

Age	51 let
Gender	Ženy

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	MDA-MB-231-GFP (katalogové číslo Cytion 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovaný reportérový gen zeleného fluorescenčního proteinu ZsGreen1, který byl zaveden pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zelený fluorescenční protein)
Mutational profile	Mutace: p.Gly464Val, heterozygotní; Mutace: p.Gly13Asp, heterozygotní; Mutace: p.Arg280Lys, homozygotní

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 1,6 mM L-glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte. 7. Postupujte podle postupu popsaného v části Obnova po rozmrazení
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza