Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Generel information

Description	MDA-MB-231-GFP er en fluorescensmærket variant af den udbredte humane brystkræftcellelinje MDA-MB-231, der er genetisk modificeret til at udtrykke grønt fluorescerende protein (GFP) via lentiviral transduktion. Denne modifikation muliggør visualisering og kvantificering i realtid af tumorcellernes dynamik både in vitro og in vivo, hvilket letter en detaljeret analyse af interaktioner mellem tumor og stroma, cellulær proliferation og metastatisk adfærd. Den oprindelige MDA-MB-231-linje stammer fra en pleural effusion hos en patient med tredobbelt-negativ brystkræft (TNBC) og udviser aggressiv, invasiv adfærd med en mesenkymalt fænotype, hvilket gør den til en grundlæggende model for studiet af TNBC's patofysiologi og behandlingsresistens. I samdyrkningsforsøg med humane mesenkymale stam-/stromaceller (MSC'er) har MDA-MB-231-GFP-celler vist en markant forøget proliferation og tumorfremmende adfærd. Undersøgelser har vist, at direkte kontakt med MSC'er – snarere end opløselige faktorer alene – er afgørende for denne effekt. Konkret førte samdyrkning med MSC'er til en stigning på 39,5 % i MDA-MB-231-GFP-cellernes proliferation efter fire dage sammenlignet med monokultur og inducerede ekspression af CD90 på en undergruppe af brystkræftceller – en markør, der ikke udtrykkes under standardbetingelser. Denne MSC-inducerede CD90-ekspression krævede direkte celle-til-celle-interaktion og blev delvist hæmmet ved blokering af gap-junctions eller Notch-signalering, hvilket indikerer involvering af specifikke intercellulære kommunikationsveje. In vivo resulterede co-injektion af MDA-MB-231-GFP-celler sammen med MSC'er i immundefekte NOD/scid-mus i et ca. tidoblet tumorvolumen og forøget metastatisk potentiale sammenlignet med injektion af kræftceller alene. Disse tumorer udviste forøget vaskularisering og højere levedygtighed samt bevarede en mindre CD90-positiv population, hvilket underbygger in vitro-fundene. Samlet set positionerer disse studier MDA-MB-231-GFP som en robust model til undersøgelse af interaktioner mellem tumor og stroma, MSC-induceret fænotypisk plasticitet og mekanismer for tumorprogression i tredobbelt-negativ brystkræft. **Genetisk modifikation:** Stabilt modificeret ved replikationsinkompetent lentiviral transduktion til at udtrykke ZsGreen1-reporteren for grønt fluorescerende protein; opretholdes som en polyklonal population under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-indeslutning.
Organism	Menneske
Tissue	Metastatisk
Disease	Adenokarcinom i brystet
Metastatic site	Pleural effusion

Karakteristika

Age	51 år
Gender	Kvinde
Ethnicity	Kaukasisk

MDA-MB-231-GFP | 305691

Morphology	Epitelial
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	MDA-MB-231-GFP (Cytion katalognummer 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Denne cellelinje indeholder et stabilt integreret ZsGreen1-grønt fluorescerende protein (reporter), der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (grønt fluorescerende protein)
Mutational profile	Mutation: p.Gly464Val, Heterozygot; Mutation: p.Gly13Asp, Heterozygot; Mutation: p.Arg280Lys, Homozygot

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 1,6 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium. 7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse