

MDA-MB-231-GFP | 305691

Γενικές πληροφορίες

Description

Το MDA-MB-231-GFP είναι μια φθορίζουσα παραλλαγή της ευρέως χρησιμοποιούμενης κυτταρικής σειράς MDA-MB-231 ανθρώπινου καρκίνου του μαστού, που έχει σχεδιαστεί για να εκφράζει πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP) μέσω ληνοϊϊκής μεταγωγής. Αυτή η τροποποίηση επιτρέπει την οπτικοποίηση και ποσοτικοποίηση σε πραγματικό χρόνο της δυναμικής των καρκινικών κυττάρων τόσο in vitro όσο και in vivo, διευκολύνοντας τη λεπτομερή ανάλυση των αλληλεπιδράσεων όγκου-στρώματος, της κυτταρικής πολλαπλασιασμού και της μεταστατικής συμπεριφοράς. Η γονική σειρά MDA-MB-231 προέρχεται από υπεζωκοτική συλλογή ασθενούς με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (TNBC) και εμφανίζει επιθετική, διηθητική συμπεριφορά με μεσεγχυματικό φαινότυπο, καθιστώντας την ένα βασικό μοντέλο για τη μελέτη της παθοφυσιολογίας του TNBC και της ανθεκτικότητας στη θεραπεία.

Σε πειράματα συν-καλλιέργειας με ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα/στρωματικά κύτταρα (MSCs), τα κύτταρα MDA-MB-231-GFP έχουν δείξει σημαντικά αυξημένο πολλαπλασιασμό και συμπεριφορά που προάγει τον όγκο. Μελέτες έδειξαν ότι η άμεση επαφή με τα MSC, και όχι μόνο οι διαλυτοί παράγοντες, είναι κρίσιμη για αυτό το αποτέλεσμα. Συγκεκριμένα, η συν-καλλιέργεια με MSC οδήγησε σε αύξηση 39,5% στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων MDA-MB-231-GFP μετά από τέσσερις ημέρες σε σύγκριση με τη μονοκαλλιέργεια και προκάλεσε την έκφραση του CD90 σε ένα υποσύνολο κυττάρων καρκίνου του μαστού — ένας δείκτης που δεν εκφράζεται υπό κανονικές συνθήκες. Αυτή η έκφραση CD90 που προκλήθηκε από τα MSC απαιτούσε άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων και αναστέλλεται εν μέρει με τον αποκλεισμό των διακλαδώσεων ή της σηματοδότησης Notch, υποδηλώνοντας τη συμμετοχή συγκεκριμένων διακυτταρικών οδών επικοινωνίας.

In vivo, η συν-ένεση κυττάρων MDA-MB-231-GFP με MSC σε ανοσοανεπαρκή ποντίκια NOD/scid είχε ως αποτέλεσμα περίπου δεκαπλάσια αύξηση του όγκου του όγκου και ενισχυμένο μεταστατικό δυναμικό σε σύγκριση με την ένεση μόνο καρκινικών κυττάρων. Αυτοί οι όγκοι παρουσίασαν αυξημένη αγγείωση και υψηλότερη βιωσιμότητα και διατήρησαν μια μειοψηφική CD90-θετική πληθυσμό, ενισχύοντας τα ευρήματα in vitro. Συνολικά, αυτές οι μελέτες τοποθετούν το MDA-MB-231-GFP ως ένα ισχυρό μοντέλο για τη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων όγκου-στρώματος, της φαινοτυπικής πλαστικότητας που προκαλείται από τα MSC και των μηχανισμών εξέλιξης του όγκου στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού.

Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Μεταστατικό
Disease	Αδενοκαρκίνωμα του μαστού
Metastatic site	Υπεζωκοτική συλλογή

Χαρακτηριστικά

Age	51 χρόνια
Gender	Γυναίκα

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Καυκάσιος
------------------	-----------

Morphology	Επιθηλιακό
-------------------	------------

Growth properties	Προσκολλημένο
--------------------------	---------------

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	MDA-MB-231-GFP (αριθμός καταλόγου Cytion 305691)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά καρκινώματος του μαστού MDA-MB-231 περιέχει μια κατασκευή GFP για την παρακολούθηση της διεισδυτικής συμπεριφοράς με φθορισμό. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.
-------------------	--

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	GFP
---------------------------	-----

Mutational profile	Μετάλλαξη: p.Gly464Val, ετερόζυγος- Μετάλλαξη: p.Gly13Asp, ετερόζυγος- Μετάλλαξη: p.Arg280Lys, ομόζυγος
---------------------------	---

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 1,6 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a)
-----------------------	--

Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 5% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.
----------------------	--

MDA-MB-231-GFP | 305691**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα $200 \times g$ για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.
7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Shipping
Conditions**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

MDA-MB-231-GFP | 305691

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA