Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Γενικές πληροφορίες

Description	Το MDA-MB-231-GFP είναι μια παραλλαγή με φθορίζουσα σήμανση της ευρέως χρησιμοποιούμενης ανθρώπινης κυτταρικής σειράς καρκίνου του μαστού MDA-MB-231, η οποία έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP) μέσω λεντιϊκής μεταγωγής. Αυτή η τροποποίηση επιτρέπει την απεικόνιση 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, του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της μεταστατικής συμπεριφοράς. Η μητρική σειρά MDA-MB-231 προέρχεται από πλευριτική συλλογή ασθενούς με τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (TNBC) και εμφανίζει επιθετική, διηθητική συμπεριφορά με μεσεγχυματικό φαινότυπο, γεγονός που την καθιστά βασικό μοντέλο για τη μελέτη της παθοφυσιολογίας του TNBC και της αντοχής στη θεραπεία. Σε πειράματα συν-καλλιέργειας με ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστικά/στρωματικά κύτταρα (MSCs), τα κύτταρα MDA-MB-231-GFP έχουν επιδείξει σημαντικά ενισχυμένο πολλαπλασιασμό και συμπεριφορά που προάγει τον όγκο. Μελέτες έδειξαν ότι η άμεση επαφή με τα MSCs, και όχι μόνο οι διαλυτοί παράγοντες, είναι κρίσιμη για αυτό το αποτέλεσμα. Συγκεκριμένα, η συν-καλλιέργεια με MSC οδήγησε σε αύξηση κατά 39,5% του πολλαπλασιασμού των κυττάρων MDA-MB-231-GFP μετά από τέσσερις ημέρες σε σύγκριση με τη μονοκαλλιέργεια, και προκάλεσε την έκφραση του CD90 σε μια υποομάδα κυττάρων καρκίνου του μαστού — έναν δείκτη που δεν εκφράζεται υπό κανονικές συνθήκες. Αυτή η επαγόμενη από τα MSC έκφραση του CD90 απαιτούσε άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων και αναστέλλεται εν μέρει με την παρεμπόδιση των διακλαδώσεων (gap junctions) ή της σηματοδότησης Notch, υποδηλώνοντας τη συμμετοχή συγκεκριμένων οδών διακυτταρικής επικοινωνίας. In vivo, η ταυτόχρονη έγχυση κυττάρων MDA-MB-231-GFP και MSC σε ποντίκια NOD/scid με ανοσοανεπάρκεια είχε ως αποτέλεσμα περίπου δεκαπλάσια αύξηση του όγκου του όγκου και ενισχυμένο μεταστατικό δυναμικό σε σύγκριση με την έγχυση μόνο καρκινικών κυττάρων. Αυτοί οι όγκοι παρουσίασαν αυξημένη αγγειογένεση και υψηλότερη βιωσιμότητα, ενώ διατήρησαν έναν μειοψηφικό πληθυσμό θετικό στο CD90, ενισχύοντας τα ευρήματα in vitro. Συνολικά, αυτές οι μελέτες τοποθετούν το MDA-MB-231-GFP ως ένα αξιόπιστο 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. **Γενετική τροποποίηση:** Σταθερά τροποποιημένο μέσω μεταγωγής με ιό λεντιβίρου ανίκανο προς αναπαραγωγή, ώστε να εκφράζει τον αναφορέα πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης ZsGreen1· διατηρείται ως πολυκλωνικός πληθυσμός υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Κατηγορία περιορισμού S1/BSL-1.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Μεταστατικό
Disease	Αδενοκαρκίνωμα του μαστού
Metastatic site	Υπεζωκοτική συλλογή

Χαρακτηριστικά

Age	51 χρόνια

MDA-MB-231-GFP | 305691

Gender	Γυναίκα
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 κυτταρική σειρά περιέχει έναν σταθερά ενσωματωμένο αναφορέα πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης ZsGreen1, ο οποίος εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)
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

MDA-MB-231-GFP | 305691

Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.
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 κρυοφιαλίδιο 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 κρυοφιαλίδιο 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 x 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% $_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες 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 κρυοσυντηρημένες 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.
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.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση