Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Üldine teave

Description	MDA-MB-231-GFP on laialdaselt kasutatava inimese rinnavähi rakuliini MDA-MB-231 fluorestsentsmärgistatud variant, mis on geneetiliselt muundatud nii, et see ekspresseerib rohelist fluorestsentsvalku (GFP) lentiviiruse transduktsiooni kaudu. See modifikatsioon võimaldab kasvajarakkude dünaamika reaalajas visualiseerimist ja kvantifitseerimist nii in vitro kui ka in vivo, hõlbustades kasvaja ja strooma vaheliste interaktsioonide, rakkude proliferatsiooni ja metastaatilise käitumise üksikasjalikku analüüsi. Algrakuliin MDA-MB-231 pärineb kolmekordselt negatiivse rinnavähiga (TNBC) patsiendi pleuraefusioonist ning näitab agressiivset, invasiivset käitumist koos mesenküümse fenotüübiga, mis teeb sellest nurgakivimudeli TNBC patofüsioloogia ja raviresistentsuse uurimiseks. Ko-kultuuri katsetes inimese mesenküümse tüvi-/strooma-rakkudega (MSC-d) on MDA-MB-231-GFP-rakud näidanud märkimisväärselt suurenenud proliferatsiooni ja kasvajat soodustavat käitumist. Uuringud näitasid, et selle efekti saavutamiseks on otsustava tähtsusega otsene kontakt MSC-dega, mitte ainult lahustuvad faktorid. Täpsemalt põhjustas kooskasvatus MSC-dega nelja päeva möödudes MDA-MB-231-GFP-rakkude proliferatsiooni 39,5% kasvu võrreldes monokultuuriga ning indutseeris CD90 ekspressiooni osal rinnavähi rakkudest – see on marker, mida tavatingimustes ei ekspresseerita. See MSC-de poolt indutseeritud CD90 ekspressioon nõudis otsest rakkudevahelist interaktsiooni ning seda pärssis osaliselt gap-ühenduste või Notch-signaalimise blokeerimine, mis viitab spetsiifiliste rakkudevaheliste kommunikatsiooniteede kaasatusele. In vivo tingis MDA-MB-231-GFP-rakkude ja mesenhümaalse tüvirakkude (MSC) ühine süstimine immuunpuudulikkusega NOD/scid-hiirtesse võrreldes ainult vähirakkude süstimisega ligikaudu kümnekordse kasvajamahtu suurenemise ja metastaaside tekkimise potentsiaali suurenemise. Nendel kasvajatel esines kõrgenenud vaskularisatsioon ja suurem eluvõime ning neis säilis väike CD90-positiivne populatsioon, mis kinnitas in vitro tulemusi. Kokkuvõttes paigutavad need uuringud MDA-MB-231-GFP tugeva mudelina kasvajastroma interaktsioonide, MSC-de poolt indutseeritud fenotüübilise plastilisuse ja kolmiknegatiivse rinnavähi kasvaja progresseerumise mehhanismide uurimiseks. **Geneetiline modifikatsioon:** stabiilselt modifitseeritud replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni abil, et ekspresseerida rohelist fluorestsentsvalku ZsGreen1; säilitatakse polüklonaalse populatsioonina puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 ohutustase.
Organism	Inimene
Tissue	Metastaatiline
Disease	Rinna adenokartsinoom
Metastatic site	Pleuraefusioon

Omadused

Age	51 aastat
Gender	Naised

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	MDA-MB-231-GFP (Cytioni kataloginumber 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud ZsGreen1 rohelist fluorestsentsvalku, mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/mL). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (roheline fluorestsentsvalk)
Mutational profile	Mutatsioon: p.Gly464Val, heterosügootne; Mutatsioon: p.Gly13Asp, heterosügootne; Mutatsioon: p.Arg280Lys, homosügootne

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 1,6 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Täiendada keskkonda 5% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant. 7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs