

MDA-MB-231-GFP | 305691

Üldine teave

Description

MDA-MB-231-GFP on laialdaselt kasutatava MDA-MB-231 inimese rinnavähi rakuliini fluorestsentsmärgistusega variant, mis on loodud rohelise fluorestsentsvalgu (GFP) ekspresseerimiseks lentiviiruse transduktsiooni abil. See modifikatsioon võimaldab reaajas visualiseerida ja kvantifitseerida kasvajakude dünaamikat nii in vitro kui ka in vivo, hõlbustades kasvaja-strooma interaktsioonide, rakkude proliferatsiooni ja metastaatilise käitumise üksikasjalikku analüüsi. Vanem MDA-MB-231 liin pärineb kolmekordselt negatiivse rinnavähi (TNBC) patsiendi pleuraefusioonist ja ilmutab agressiivset, invasiivset käitumist mesenküümse fenotüübiga, mis teeb sellest nurgakivimudeli TNBC patofüsioloogia ja raviresistentsuse uurimiseks.

Koos kultiveerimise katsetes inimese mesenküümse tüvi-/stromaalsete rakkudega (MSC) on MDA-MB-231-GFP rakud näidanud oluliselt suurenenud proliferatsiooni ja kasvajate teket soodustavat käitumist. Uuringud näitasid, et selle efekti jaoks on otsustava tähtsusega otsene kontakt MSC-dega, mitte ainult lahustuvad faktorid. Täpsemalt, ko-kultuur MSC-dega viis nelja päeva pärast MDA-MB-231-GFP rakkude proliferatsiooni 39,5% suurenemiseni võrreldes monokultuuriga ja indutseeris CD90 ekspressiooni rinnanäärmevähi rakkude alarühmas – marker, mida standardtingimustes ei ekspresseerita. See MSC-indutseeritud CD90 ekspressioon nõudis otsest rakkudevahelist interaktsiooni ja oli osaliselt inhibeeritud gap-ühenduste või Notch-signaalide blokeerimise kaudu, mis viitab spetsiifiliste rakkudevaheliste kommunikatsiooniteede kaasatusele.

In vivo, MDA-MB-231-GFP rakkude ja MSC-de ühine süstimine immuunpuudulikkusega NOD/scid hiirtesse põhjustas umbes kümnekordse kasvaja mahu suurenemise ja metastaatilise potentsiaali suurenemise võrreldes ainult vähirakkude süstimisega. Need kasvajad näitasid kõrge vaskularisatsiooni ja suuremat eluvõimelisust ning säilitasid väikese CD90-positiivse populatsiooni, mis kinnitas in vitro tulemusi. Kokkuvõttes positioneerivad need uuringud MDA-MB-231-GFP tugeva mudelina kasvaja-stroma interaktsioonide, MSC-indutseeritud fenotüüpse plastilisuse ja kasvaja progresseerumise mehhanismide uurimiseks kolmekordselt negatiivses rinnavähis.

Organism Inimene

Tissue Metastaatiline

Disease Rinna adenokartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

Omadused

Age 51 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteel

MDA-MB-231-GFP | 305691

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation MDA-MB-231-GFP (Cytioni katalooginumber 305691)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E2QK

GMO Status GMO-S1: See MDA-MB-231 inimese rinnanäärme kartsinoomi liin sisaldab GFP konstruktsiooni invasiivse käitumise fluorestseerimiseks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression GFP

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

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

MDA-MB-231-GFP | 305691

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

MDA-MB-231-GFP | 305691

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA