Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Yleisiä tietoja

Description	MDA-MB-231-GFP on laajalti käytetyn MDA-MB-231-ihmisen rintasyöpäsolulinjan fluoresoivasti merkitty muunnos, joka on muokattu ilmentämään vihreää fluoresoivaa proteiinia (GFP) lentiviruksen välittämän transduktion avulla. Tämä muunnos mahdollistaa kasvainsolujen dynamiikan reaaliaikaisen visualisoinnin ja kvantifioinnin sekä in vitro että in vivo, mikä helpottaa kasvain-stroma-vuorovaikutusten, solujen proliferaation ja metastaattisen käyttäytymisen yksityiskohtaista analysointia. Alkuperäinen MDA-MB-231-solulinja on peräisin kolmoisnegatiivista rintasyöpää (TNBC) sairastavan potilaan keuhkopussinesteestä, ja se osoittaa aggressiivista, invasiivista käyttäytymistä mesenkymaalisella fenotyypillä, mikä tekee siitä keskeisen mallin TNBC:n patofysiologian ja hoitoresistenssin tutkimuksessa. Yhteiskasvatuskokeissa ihmisen mesenkymaalisten kantasolu-/stromasolujen (MSC) kanssa MDA-MB-231-GFP-solut ovat osoittaneet merkittävästi tehostunutta proliferaatiota ja kasvaimia edistävää käyttäytymistä. Tutkimukset osoittivat, että suora kontakti MSC-solujen kanssa, eikä pelkästään liukoiset tekijät, on ratkaisevaa tämän vaikutuksen kannalta. Erityisesti yhteisviljely MSC-solujen kanssa johti neljän päivän kuluttua 39,5 %:n kasvuun MDA-MB-231-GFP-solujen proliferaatiossa verrattuna yksiviljelyyn ja indusoi CD90:n ilmentymistä osassa rintasyöpäsoluja – merkkiainetta, jota ei ilmenty tavanomaisissa olosuhteissa. Tämä MSC-solujen indusoima CD90-ilmentyminen edellytti suoraa solu-solu-vuorovaikutusta, ja se estyi osittain, kun gap-liitoksia tai Notch-signalointia estettiin, mikä viittaa tiettyjen solujen välisten viestintäreittien osallisuuteen. In vivo -olosuhteissa MDA-MB-231-GFP-solujen ja MSC-solujen yhteisruiskuttaminen immuunipuutteisille NOD/scid-hiirille johti noin kymmenkertaiseen kasvaimen tilavuuden kasvuun ja lisääntyneeseen metastaattiseen potentiaaliin verrattuna pelkästään syöpäsolujen ruiskuttamiseen. Näissä kasvaimissa havaittiin lisääntynyttä verisuonitusta ja parempaa elinkelpoisuutta, ja niissä säilyi pieni CD90-positiivinen populaatio, mikä vahvisti in vitro -tutkimusten tuloksia. Yhteenvetona nämä tutkimukset asettavat MDA-MB-231-GFP:n vankaksi malliksi, jolla voidaan tutkia kasvaimen ja stroman välisiä vuorovaikutuksia, MSC:iden indusoimaa fenotyyppistä plastisuutta sekä kasvaimen etenemismekanismeja kolminkertaisesti negatiivisessa rintasyövässä. **Geneettinen muuntelu:** Muunnettu stabiilisti replikaatiokyvyttömällä lentiviruksen välityksellä ilmentämään ZsGreen1-vihreää fluoresoivaa proteiinireportteria; ylläpidetään polyklonaalisena populaationa puromysiiniselektiossa (1–5 µg/mL). S1/BSL-1-turvaluokitus.
Organism	Ihminen
Tissue	Metastaattinen
Disease	Rintojen adenokarsinooma
Metastatic site	Pleuraeffuusio

Ominaisuudet

Age	51 vuotta
Gender	Nainen

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	MDA-MB-231-GFP (Cytionin luettelonumero 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Tämä solulinja sisältää stabiilisti integroidun ZsGreen1-vihreän fluoresoivan proteiinin raportointigeenin, joka on tuotu soluun replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyylitiedot

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (vihreä fluoresoiva proteiini)
Mutational profile	Mutaatio: p.Gly464Val, heterotsygoottinen; Mutaatio: p.Gly13Asp, heterotsygoottinen; Mutaatio: p.Arg280Lys, homotsygoottinen

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 1,6 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 5 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.
Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti. 7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi