Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Általános információk

Description	Az MDA-MB-231-GFP a széles körben használt MDA-MB-231 emberi emlőrák-sejtvonal fluoreszcens jelöléssel ellátott változata, amelyet úgy alakítottak ki, hogy lentivirális transzdukció révén zöld fluoreszcens fehérjét (GFP) fejezzen ki. Ez a módosítás lehetővé teszi a tumorsejtek dinamikájának valós idejű vizualizálását és kvantifikálását mind in vitro, mind in vivo körülmények között, elősegítve a tumor-stroma kölcsönhatások, a sejtproliferáció és a metasztatikus viselkedés részletes elemzését. Az eredeti MDA-MB-231 vonal egy hármas negatív emlőrákban (TNBC) szenvedő beteg pleurális folyadékgyüleméből származik, és agresszív, invazív viselkedést mutat mesenchimális fenotípussal, ami a TNBC patofiziológiájának és a kezeléssel szembeni rezisztenciájának tanulmányozására szolgáló alapvető modellé teszi. Emberi mezenchimális ős-/stromasejtekkel (MSC-k) végzett ko-kultúra-kísérletekben az MDA-MB-231-GFP sejtek jelentősen fokozott proliferációt és tumor-elősegítő viselkedést mutattak. A vizsgálatok kimutatták, hogy e hatás szempontjából nem csupán az oldható faktorok, hanem az MSC-kkel való közvetlen érintkezés is döntő jelentőségű. Konkrétan az MSC-kkel végzett együttes tenyésztés négy nap elteltével 39,5%-os növekedést eredményezett az MDA-MB-231-GFP sejtek proliferációjában az egysejtű tenyésztéshez képest, és egy emlőráksejt-alcsoportban indukálta a CD90 expresszióját – egy olyan markert, amely normál körülmények között nem expresszálódik. Ez az MSC-k által kiváltott CD90-expresszió közvetlen sejt-sejt kölcsönhatást igényelt, és részben gátolható volt a gap-junctionok vagy a Notch-jelátvitel blokkolásával, ami specifikus sejtközi kommunikációs útvonalak részvételére utal. In vivo körülmények között az MDA-MB-231-GFP sejtek és az MSC-k együttes bejuttatása immunhiányos NOD/scid egerekbe a ráksejtek önálló bejuttatásához képest körülbelül tízszeresére növelte a tumor térfogatát és fokozta a metasztatikus potenciált. Ezek a daganatok fokozott érrendszerképződést és nagyobb életképességet mutattak, és megőrizték a kis számú CD90-pozitív populációt, alátámasztva az in vitro eredményeket. Összességében ezek a vizsgálatok az MDA-MB-231-GFP-t megbízható modellként pozícionálják a tumor-stroma kölcsönhatások, az MSC-k által kiváltott fenotípusos plaszticitás, valamint a hármas negatív emlőrákban a tumorprogresszió mechanizmusainak vizsgálatához. **Genetikai módosítás:** Replikációra képtelen lentivírusos transzdukcióval stabilan módosítva a ZsGreen1 zöld fluoreszcens fehérje-riporter expressziójára; puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) alatt poliklonális populációként fenntartva. S1/BSL-1 biztonsági szint.
Organism	Emberi
Tissue	Metasztatikus
Disease	Mell adenokarcinóma
Metastatic site	Mellhártya folyadékgyülem

Jellemzők

Age	51 év
Gender	Női

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelialis
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	MDA-MB-231-GFP (Cytion katalógusszám: 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált ZsGreen1 zöld fluoreszcens fehérje-riportgént tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) alatt tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zöld fluoreszkáló fehérje)
Mutational profile	Mutáció: p.Gly464Val, heterozigóta; Mutáció: p.Gly13Asp, heterozigóta; Mutáció: p.Arg280Lys, homozigóta

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 1,6 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	A táptalajt 5% FBS-szel egészítsük ki
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.
Thawing and Culturing Cells	1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák. 2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség. 3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad. 4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal. 5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz. 6. Centrifugáljuk az elegyet 200 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el. 7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés