Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Informazioni generali

Description	MDA-MB-231-GFP è una variante marcata con fluorescenza della linea cellulare MDA-MB-231, ampiamente utilizzata per lo studio del carcinoma mammario umano, ingegnerizzata per esprimere la proteina fluorescente verde (GFP) tramite trasduzione lentivirale. Questa modifica consente la visualizzazione e la quantificazione in tempo reale delle dinamiche delle cellule tumorali sia in vitro che in vivo, facilitando l'analisi dettagliata delle interazioni tumore-stroma, della proliferazione cellulare e del comportamento metastatico. La linea parentale MDA-MB-231 ha origine da un versamento pleurico di una paziente affetta da carcinoma mammario triplo-negativo (TNBC) e mostra un comportamento aggressivo e invasivo con un fenotipo mesenchimale, rendendola un modello fondamentale per lo studio della fisiopatologia del TNBC e della resistenza al trattamento. Negli esperimenti di cocultura con cellule staminali/stromali mesenchimali (MSC) umane, le cellule MDA-MB-231-GFP hanno dimostrato una proliferazione e un comportamento promotore di tumori significativamente potenziati. Gli studi hanno dimostrato che il contatto diretto con le MSC, piuttosto che i soli fattori solubili, è fondamentale per questo effetto. In particolare, la cocultura con le MSC ha determinato un aumento del 39,5% della proliferazione delle cellule MDA-MB-231-GFP dopo quattro giorni rispetto alla monocultura e ha indotto l'espressione di CD90 su un sottogruppo di cellule tumorali mammarie — un marcatore che non viene espresso in condizioni standard. Questa espressione di CD90 indotta dalle MSC richiedeva un'interazione diretta cellula-cellula ed è stata parzialmente inibita bloccando le giunzioni comunicanti o la segnalazione Notch, indicando il coinvolgimento di specifiche vie di comunicazione intercellulare. In vivo, la co-iniezione di cellule MDA-MB-231-GFP con MSC in topi NOD/scid immunodeficienti ha determinato un aumento di circa dieci volte del volume tumorale e un potenziamento del potenziale metastatico rispetto all'iniezione delle sole cellule tumorali. Questi tumori presentavano una vascolarizzazione elevata e una maggiore vitalità, e conservavano una popolazione minoritaria CD90-positiva, a conferma dei risultati in vitro. Nel loro insieme, questi studi posizionano MDA-MB-231-GFP come un modello solido per lo studio delle interazioni tumore-stroma, della plasticità fenotipica indotta dalle MSC e dei meccanismi di progressione tumorale nel carcinoma mammario triplo-negativo. **Modifica genetica:** modificato in modo stabile tramite trasduzione lentivirale a replicazione incompetente per esprimere il reporter della proteina fluorescente verde ZsGreen1; mantenuto come popolazione policlonale sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). Contenimento S1/BSL-1.
Organism	Umano
Tissue	Metastatico
Disease	Adenocarcinoma della mammella
Metastatic site	Versamento pleurico

Caratteristiche

Age	51 anni
Gender	Donna

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Caucasico
Morphology	Epiteliale
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	MDA-MB-231-GFP (catalogo Cytion numero 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare contiene un reporter della proteina fluorescente verde ZsGreen1 integrato in modo stabile, introdotto tramite trasduzione lentivirale incompetente alla replicazione. La popolazione cellulare policlonale così ottenuta è stata mantenuta sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). È richiesto il livello di contenimento S1. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (proteina fluorescente verde)
Mutational profile	Mutazione: p.Gly464Val, eterozigote; Mutazione: p.Gly13Asp, eterozigote; Mutazione: p.Arg280Lys, omozigote

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 1,6 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 1,0 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 5% di FBS

MDA-MB-231-GFP | 305691

Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelamento.
Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento. 7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelamento
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare