Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Bendra informacija

Description	MDA-MB-231-GFP yra plačiai naudojamos žmogaus krūties vėžio ląstelių linijos MDA-MB-231 fluorescenciniu žymekliu pažymėta atmaina, genetiškai modifikuota taip, kad per lentivirusinę transdukciją ekspresuotų žalią fluorescuojantį baltymą (GFP). Ši modifikacija leidžia realiuoju laiku stebėti ir kiekybiškai įvertinti naviko ląstelių dinamiką tiek in vitro, tiek in vivo, o tai palengvina išsamią naviko ir stromos sąveikos, ląstelių proliferacijos bei metastazavimo elgsenos analizę. Pirminė MDA-MB-231 linija kilusi iš paciento, sergančio trigubai neigiamu krūties vėžiu (TNBC), pleuros išsiliejimo skysčio ir pasižymi agresyviu, invaziniu elgesiu bei mezenchiminiu fenotipu, todėl ji yra pagrindinis modelis TNBC patofiziologijos ir atsparumo gydymui tyrimams. Atliekant bendros kultūros eksperimentus su žmogaus mezenchiminėmis kamieninėmis/stromos ląstelėmis (MSC), MDA-MB-231-GFP ląstelės parodė žymiai sustiprėjusią proliferaciją ir naviką skatinančią elgseną. Tyrimai parodė, kad šiam efektui lemiamą reikšmę turi tiesioginis kontaktas su MSC, o ne vien tik tirpūs veiksniai. Konkrečiai, bendra kultūra su MSC po keturių dienų lėmė 39,5 % didesnę MDA-MB-231-GFP ląstelių proliferaciją, palyginti su monokultūra, ir paskatino CD90 ekspresiją tam tikroje krūties vėžio ląstelių grupėje – tai žymuo, kuris įprastomis sąlygomis nėra ekspresuojamas. Ši MSC sukeliama CD90 ekspresija reikalavo tiesioginės ląstelių tarpusavio sąveikos ir buvo iš dalies slopinama blokuojant tarpląstelines jungtis arba „Notch“ signalizavimą, o tai rodo, kad procese dalyvauja specifiniai tarpląsteliniai komunikacijos keliai. In vivo, kartu sušvirkštus MDA-MB-231-GFP ląsteles ir MSC į imunodeficitus NOD/scid peles, naviko tūris padidėjo maždaug dešimt kartų, o metastazavimo potencialas sustiprėjo, palyginti su atveju, kai buvo sušvirkštos tik vėžio ląstelės. Šie navikai pasižymėjo padidėjusiu kraujagyslių tankumu ir didesniu gyvybingumu bei išlaikė nedidelę CD90-teigiamą populiaciją, o tai patvirtina in vitro gautus rezultatus. Apibendrinant, šie tyrimai leidžia MDA-MB-231-GFP laikyti patikimu modeliu, skirtu tirti naviko ir stromos sąveikas, MSC sukeltą fenotipinį plastiškumą bei naviko progresavimo mechanizmus trigubai neigiamo krūties vėžio atveju. **Genetinis modifikavimas:** stabiliai modifikuota replikacijos nesugebančios lentivirusinės transdukcijos būdu, kad ekspresuotų žalią fluorescuojančio baltymo reporterį „ZsGreen1“; išlaikoma kaip poliklonine populiacija, atrinkta puromicino atrankos būdu (1–5 µg/mL). S1/BSL-1 saugumo lygis.
Organism	Žmogus
Tissue	Metastazių
Disease	Krūties adenokarcinoma
Metastatic site	Pleuros išskyros

Charakteristikos

Age	51 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių

MDA-MB-231-GFP | 305691

Morphology	Epitelis
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	MDA-MB-231-GFP (Cytion katalogo numeris 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruotas žalios fluorescencijos baltymo „ZsGreen1“ reporteris, įvestas naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (žaliasis fluorescuojantis baltymas)
Mutational profile	Mutacija: p.Gly464Val, heterozigotinė; mutacija: p.Gly13Asp, heterozigotinė; mutacija: p.Arg280Lys, homozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 1,6 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe. 7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė