Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Vispārīga informācija

Description	MDA-MB-231-GFP ir plaši izmantotās cilvēka krūts vēža šūnu līnijas MDA-MB-231 fluorescences marķēts variants, kas ģenētiski modificēts, lai ar lentivīrusa transdukcijas palīdzību ekspresētu zaļo fluorescējošo proteīnu (GFP). Šī modifikācija ļauj reāllaikā vizualizēt un kvantificēt audzēja šūnu dinamiku gan in vitro, gan in vivo, atvieglojot detalizētu audzēja un stromas mijiedarbības, šūnu proliferācijas un metastāžu izplatības analīzi. Sākotnējā MDA-MB-231 līnija ir iegūta no pleiras izdalījumiem pacientei ar trīskārši negatīvo krūts vēzi (TNBC) un izrāda agresīvu, invazīvu uzvedību ar mezenhimālo fenotipu, tādējādi kļūstot par pamata modeli TNBC patofizioloģijas un rezistences pret ārstēšanu izpētei. Kokultūras eksperimentos ar cilvēka mezenhīmālajām cilmes/stromas šūnām (MSC) MDA-MB-231-GFP šūnas ir parādījušas ievērojami pastiprinātu proliferāciju un audzēja veicinošu uzvedību. Pētījumi liecina, ka šim efektam izšķiroša nozīme ir tiešajam kontaktam ar MSC, nevis tikai šķīstošajiem faktoriem. Konkrēti, kopkultūra ar MSC pēc četrām dienām salīdzinājumā ar monokultūru izraisīja MDA-MB-231-GFP šūnu proliferācijas pieaugumu par 39,5 % un inducēja CD90 ekspresiju daļā krūts vēža šūnu — šis marķieris standarta apstākļos netiek ekspresēts. Šī MSC izraisītā CD90 ekspresija prasīja tiešu šūnu savstarpējo mijiedarbību un tika daļēji inhibēta, bloķējot šūnu savienojumus vai Notch signālceļu, kas liecina par specifisku starpšūnu komunikācijas ceļu iesaistīšanos. In vivo MDA-MB-231-GFP šūnu un MSC vienlaicīga injicēšana imūndeficītiem NOD/scid pelēm izraisīja aptuveni desmitkārtīgu audzēja tilpuma palielināšanos un paaugstinātu metastāzēšanas potenciālu salīdzinājumā ar vienīgi vēža šūnu injicēšanu. Šiem audzējiem bija paaugstināta vaskularizācija un lielāka dzīvotspēja, un tajos saglabājās neliela CD90-pozitīva populācija, kas apstiprina in vitro iegūtos rezultātus. Kopumā šie pētījumi pozicionē MDA-MB-231-GFP kā uzticamu modeli audzēja un stromas mijiedarbības, MSC izraisītās fenotipiskās plastiskuma un audzēja progresēšanas mehānismu izpētei trīskārši negatīvā krūts vēža gadījumā. **Ģenētiskā modifikācija:** stabili modificēts ar replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju, lai ekspresētu ZsGreen1 zaļās fluorescences proteīna reporteru; tiek uzturēts kā poliklonāla populācija puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). S1/BSL-1 drošības līmenis.
Organism	Cilvēks
Tissue	Metastātisks
Disease	Krūts adenokarcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums

Raksturojums

Age	51 gads
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis

MDA-MB-231-GFP | 305691

Morphology	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	MDA-MB-231-GFP (Cytion kataloga numurs 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ZsGreen1 zaļās fluorescences proteīna reporteru, kas ievadīts, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zaļais fluorescējošais proteīns)
Mutational profile	Mutācija: p.Gly464Val, heterozigots; Mutācija: p.Gly13Asp, heterozigots; Mutācija: p.Arg280Lys, homozigots

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 1,6 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet. 7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze