

MDA-MB-231-GFP | 305691

Vispārīga informācija

Description

MDA-MB-231-GFP ir fluorescējoši marķēts variants plaši izmantotajai MDA-MB-231 cilvēka krūts vēža šūnu līnijai, kas izstrādāta, lai izteiktu zaļo fluorescējošo proteīnu (GFP) ar lentivīrusu transdukciju. 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 metastāzes uzvedības analīzi. Mātes MDA-MB-231 līnija ir iegūta no pleiras izsvīduma pacientam ar trīskārši negatīvu krūts vēzi (TNBC) un izrāda agresīvu, invazīvu uzvedību ar mezenhimālo fenotipu, padarot to par pamata modeli TNBC patofizioloģijas un ārstēšanas rezistences izpētei.

Kopkultūras eksperimentos ar cilvēka mezenhimālajām cilmes/stromas šūnām (MSC) MDA-MB-231-GFP šūnas ir parādījušas ievērojami pastiprinātu proliferāciju un audzēju veicinošu uzvedību. Pētījumi parādīja, ka šim efektam ir izšķiroša nozīme tiešais kontakts ar MSC, nevis tikai šķīstošie faktori. Konkrēti, kopkultivēšana ar MSC pēc četrām dienām izraisīja MDA-MB-231-GFP šūnu proliferācijas pieaugumu par 39,5 % salīdzinājumā ar monokultūru un inducēja CD90 ekspresiju daļā krūts vēža šūnu — marķieris, kas standarta apstākļos netiek ekspresēts. Šī MSC izraisītā CD90 ekspresija prasīja tiešu šūnu mijiedarbību un tika daļēji inhibēta, bloķējot šūnu savienojumus vai Notch signālus, norādot uz specifisku starpšūnu komunikācijas ceļu iesaistīšanos.

In vivo MDA-MB-231-GFP šūnu kopīga injekcija ar MSC imūndeficītiem NOD/scid pelēm izraisīja aptuveni desmitkārtīgu audzēja apjoma palielināšanos un pastiprinātu metastāzes potenciālu salīdzinājumā ar vienīgi vēža šūnu injekciju. Šie audzēji izrādīja paaugstinātu vaskularizāciju un augstāku dzīvotspēju, kā arī saglabāja nelielu CD90 pozitīvo populāciju, apstiprinot in vitro atklājumus. Kopumā šie pētījumi pozicionē MDA-MB-231-GFP kā spēcīgu modeli audzēja un stromas mijiedarbības, MSC izraisītas fenotipiskās plastiskuma un audzēja progresēšanas mehānismu izpētei trīskārši negatīvā krūts vēža gadījumā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Metastātisks

Disease

Krūts adenokarcinoma

Metastatic site

Pleiras izsvīdums

Raksturojums

Age

51 gads

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

MDA-MB-231-GFP | 305691

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 MDA-MB-231 cilvēka krūts karcinomas līnija satur GFP konstruktus, lai fluorescējoši uzraudzītu invazīvo uzvedību. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

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 NaHCO ₃ (Cytion 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

MDA-MB-231-GFP | 305691**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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 šķidrums 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 slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

MDA-MB-231-GFP | 305691

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA