Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Informacje ogólne

Description	MDA-MB-231-GFP to znakowana fluorescencyjnie odmiana powszechnie stosowanej ludzkiej linii komórkowej raka piersi MDA-MB-231, zmodyfikowana genetycznie w celu ekspresji zielonego białka fluorescencyjnego (GFP) poprzez transdukcję lentiwirusową. Modyfikacja ta umożliwia wizualizację i kwantyfikację dynamiki komórek nowotworowych w czasie rzeczywistym zarówno in vitro, jak i in vivo, ułatwiając szczegółową analizę interakcji między nowotworem a zrębem, proliferacji komórkowej oraz zachowań przerzutowych. Pierwotna linia MDA-MB-231 pochodzi z wysięku opłucnowego pacjentki z potrójnie ujemnym rakiem piersi (TNBC) i wykazuje agresywne, inwazyjne zachowanie o fenotypie mezenchymalnym, co czyni ją podstawowym modelem do badania patofizjologii TNBC i oporności na leczenie. W eksperymentach z hodowlą mieszaną z ludzkimi mezenchymalnymi komórkami macierzystymi/stromalnymi (MSC) komórki MDA-MB-231-GFP wykazały znacznie zwiększoną proliferację i zachowania sprzyjające rozwojowi nowotworu. Badania wykazały, że dla uzyskania tego efektu kluczowe znaczenie ma bezpośredni kontakt z MSC, a nie same czynniki rozpuszczalne. W szczególności współhodowla z komórkami MSC doprowadziła po czterech dniach do wzrostu proliferacji komórek MDA-MB-231-GFP o 39,5% w porównaniu z hodowlą pojedynczą oraz indukowała ekspresję CD90 w podgrupie komórek raka piersi – markera, który nie ulega ekspresji w standardowych warunkach. Ta indukowana przez MSC ekspresja CD90 wymagała bezpośredniej interakcji międzykomórkowej i była częściowo hamowana przez blokowanie połączeń szczelinowych lub sygnalizacji Notch, co wskazuje na udział określonych szlaków komunikacji międzykomórkowej. In vivo, współwstrzyknięcie komórek MDA-MB-231-GFP wraz z MSC do myszy NOD/scid z niedoborem odporności spowodowało około dziesięciokrotny wzrost objętości guza i zwiększony potencjał przerzutowy w porównaniu z wstrzyknięciem samych komórek nowotworowych. Nowotwory te wykazywały zwiększone unaczynienie i wyższą żywotność oraz zachowały mniejszościową populację komórek CD90-dodatnich, co potwierdza wyniki badań in vitro. W sumie badania te wskazują, że linia MDA-MB-231-GFP stanowi solidny model do badania interakcji między guzem a zrębem, plastyczności fenotypowej indukowanej przez komórki MSC oraz mechanizmów progresji nowotworu w potrójnie ujemnym raku piersi. **Modyfikacja genetyczna:** Stabilnie zmodyfikowane poprzez transdukcję lentiwirusową o niezdolności do replikacji w celu ekspresji reporterowego białka fluorescencyjnego ZsGreen1; utrzymywane jako populacja poliklonalna pod selekcją puromycyny (1–5 µg/mL). Poziom bezpieczeństwa S1/BSL-1.
Organism	Człowiek
Tissue	Przerzuty
Disease	Gruczolakorak piersi
Metastatic site	Wysięk opłucnowy

Charakterystyka

Age	51 lat
Gender	Kobieta

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Nabłonek
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	MDA-MB-231-GFP (numer katalogowy Cytion 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowany reporter białka zielonej fluorescencji ZsGreen1, wprowadzony za pomocą transdukcji lentiwirusowej z wykorzystaniem wirusa niezdolnego do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zielone białko fluorescencyjne)
Mutational profile	Mutacja: p.Gly464Val, heterozygotyczna; Mutacja: p.Gly13Asp, heterozygotyczna; Mutacja: p.Arg280Lys, homozygotyczna

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 1,6 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 5% FBS

MDA-MB-231-GFP | 305691

Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.
Thawing and Culturing Cells	1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu. 2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla. 3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu. 4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem. 5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając. 6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania. 7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna