

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	Gruzołakorak 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** Uzuppełnić 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 przepływowej, 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 $200 \times g$ 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% CO_2 , 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 fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

MDA-MB-231-GFP | 305691

**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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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