Product sheet

Komórki 4T1-GFP | 305625

Informacje ogólne

Description	4T1-GFP to genetycznie zmodyfikowana odmiana mysiej linii komórkowej raka sutka 4T1, która w sposób konstytutywny wyraża zielone białko fluorescencyjne (GFP), co umożliwia wizualizację i śledzenie komórek nowotworowych w czasie rzeczywistym zarówno in vitro, jak i in vivo. Pierwotna linia 4T1 pochodziła z nowotworu sutka, który powstał spontanicznie u myszy rasy BALB/c i jest charakteryzowana jako wysoce nowotworotwórczy, potrójnie ujemny model raka piersi. Po ortotopowym wstrzyknięciu do poduszeczki tłuszczowej sutka syngenicznych myszy BALB/c z prawidłową odpornością komórki 4T1 tworzą agresywne guzy pierwotne, które spontanicznie dają przerzuty do płuc, wątroby, węzłów chłonnych i kości, co ściśle odzwierciedla przebieg ludzkiego raka piersi w stadium IV. Co istotne, wykazano, że model 4T1 powoduje powstawanie osteolitycznych przerzutów do kości po ortotopowym wszczepieniu, co czyni go modelem o znaczeniu klinicznym do badania rozprzestrzeniania się raka piersi i kolonizacji szkieletu. Znaczniczenie komórek 4T1 białkiem GFP umożliwia czułe wykrywanie guzów pierwotnych, krążących komórek nowotworowych oraz ognisk przerzutowych za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej, cytometrii przepływowej oraz systemów obrazowania in vivo. Ułatwia to ilościową ocenę obciążenia przerzutowego, obrazowanie in vivo dynamiki komórek nowotworowych oraz śledzenie interakcji między komórkami nowotworowymi a komórkami zrębu lub komórkami odpornościowymi. W modelach ortotopowych i wewnątrzsercowych pochodne linii 4T1 wyrażające GFP pozwalają na precyzyjną identyfikację komórek nowotworowych w szpiku kostnym, miąższu płucnym i innych miejscach przerzutowych, pokonując ograniczenia związane z samym wykrywaniem histologicznym. Ponieważ macierzysta linia 4T1 zachowuje nienaruszone interakcje immunogeniczne u syngenicznych gospodarzy BALB/c, linia 4T1-GFP nadaje się szczególnie do badań dotyczących modulacji immunologicznej, przebudowy mikrośrodowiska nowotworowego oraz tworzenia nisz przerzutowych w warunkach pełnej kompetencji immunologicznej. Pod względem molekularnym komórki 4T1 wykazują cechy agresywnego, mezenchymalnego raka piersi, w tym wysoką inwazyjność, odporność na anoikis oraz silną zdolność do tworzenia przerzutów. Doniesiono, że warianty i subklony linii 4T1 wykazują zróżnicowany tropizm przerzutowy oraz profile ekspresji chemokin, takie jak zwiększona produkcja CCL4 w pochodnych o tropizmie kostnym, co podkreśla przydatność tego modelu w analizie mechanizmów przerzutów specyficznych dla poszczególnych narządów. Jako fluorescencyjnie śledzalny odpowiednik tego uznanego systemu przerzutowego, linia 4T1-GFP stanowi potężną platformę do ilościowych badań nad przerzutami, testowania skuteczności terapeutycznej, badań z zakresu immunoonkologii oraz analizy kinetyki rozprzestrzeniania się i kolonizacji komórek nowotworowych in vivo. **Modyfikacja genetyczna:** Stabilnie zmodyfikowany poprzez transdukcję lentiwirusową pozbawioną zdolności replikacji w celu ekspresji reporterowego białka fluorescencyjnego ZsGreen1; utrzymywany jako populacja poliklonalna pod selekcją puromycyną (1–5 µg/mL). Poziom bezpieczeństwa S1/BSL-1.
Organism	Mysz
Tissue	Gruczoł sutkowy
Disease	Nowotwory złośliwe
Metastatic site	Płuca (główne miejsce przerzutów w ortotopowym modelu BALB/c); a także wątroba, węzły chłonne, kości

Product sheet

Komórki 4T1-GFP | 305625

Applications	Badania nad przerzutowym rakiem piersi; śledzenie komórek nowotworowych z wykorzystaniem białka GFP; ortotopowe wszczepianie tkanki tłuszczowej piersi; obrazowanie in vivo (fluorescencyjne); ocena immunoterapii; immunologia nowotworów; biologia przerzutów
Synonyms	4T1-A, 4T1.0, 4T1/WT

Charakterystyka

Age	Wiek nieokreślony
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Komórki nabłonkowe
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	4T1-GFP (numer katalogowy Cytion 305625)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0125
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

Surface antigens	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zielone białko fluorescencyjne)

Komórki 4T1-GFP | 305625

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	12,6 godziny
Split ratio	od 1 do 3
Seeding density	1 do 3 x $10^{4\ \text{komórek}}/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Komórki 4T1-GFP | 305625

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.
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