Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Všeobecné informácie

Description	MDA-MB-231-GFP je fluorescenčne značená varianta široko používaného ľudského bunkového kmeňa rakoviny prsníka MDA-MB-231, ktorá bola geneticky upravená tak, aby prostredníctvom lentivírusovej transdukcie exprimovala zelený fluorescenčný proteín (GFP). Táto modifikácia umožňuje vizualizáciu a kvantifikáciu dynamiky nádorových buniek v reálnom čase tak in vitro, ako aj in vivo, čo uľahčuje podrobnú analýzu interakcií medzi nádorom a strómou, bunkovej proliferácie a metastatického správania. Pôvodná bunka MDA-MB-231 pochádza z pleurálneho výpotku pacientky s trojnásobne negatívnou rakovinou prsníka (TNBC) a vykazuje agresívne, invazívne správanie s mezenchýmovým fenotypom, čo z nej robí kľúčový model na štúdium patofyziológie TNBC a rezistencie voči liečbe. V experimentoch s ko-kultúrou s ľudskými mezenchýmovými kmeňovými/stromálnymi bunkami (MSC) preukázali bunky MDA-MB-231-GFP výrazne zvýšenú proliferáciu a správanie podporujúce rast nádoru. Štúdie ukázali, že pre tento efekt je rozhodujúci priamy kontakt s MSC, a nie samotné rozpustné faktory. Konkrétne, spoločná kultivácia s MSC viedla po štyroch dňoch k 39,5 % nárastu proliferácie buniek MDA-MB-231-GFP v porovnaní s monokultúrou a indukovala expresiu CD90 na podskupine buniek rakoviny prsníka – markeru, ktorý sa za štandardných podmienok neexprimuje. Táto MSC-indukovaná expresia CD90 si vyžadovala priamu interakciu medzi bunkami a bola čiastočne inhibovaná blokovaním gap junctions alebo Notch signalizácie, čo naznačuje zapojenie špecifických medzibunkových komunikačných dráh. In vivo viedla súbežná injekcia buniek MDA-MB-231-GFP spolu s MSC do imunodeficientných myší NOD/scid k približne desaťnásobnému zvýšeniu objemu nádoru a zvýšenému metastatickému potenciálu v porovnaní s injekciou samotných rakovinových buniek. Tieto nádory vykazovali zvýšenú vaskularizáciu a vyššiu životaschopnosť a zachovali si menšinovú populáciu CD90-pozitívnych buniek, čo potvrdzuje zistenia in vitro. V súhrne tieto štúdie zaradzujú MDA-MB-231-GFP medzi spoľahlivé modely na skúmanie interakcií medzi nádorom a strómou, fenotypovej plasticity indukovanej MSC a mechanizmov progresie nádoru pri trojito negatívnom karcinóme prsníka. **Genetická modifikácia:** Stabilne modifikované replikačne nekompetentnou lentivírusovou transdukciou na expresiu reportérového zeleného fluorescenčného proteínu ZsGreen1; udržiavané ako polyklonálna populácia pri selekcii puromycínom (1–5 µg/ml). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.
Organism	Ľudské
Tissue	Metastatické
Disease	Adenokarcinóm prsníka
Metastatic site	Pleurálny výpotok

Charakteristika

Age	51 rokov
Gender	Ženy

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	MDA-MB-231-GFP (katalógové číslo Cytion 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Táto bunková línia obsahuje stabilne integrovaný reportérny zelený fluorescenčný proteín ZsGreen1, ktorý bol zavedený prostredníctvom lentivírusovej transdukcie bez schopnosti replikácie. Výsledná polyklonálna bunková populácia bola udržiavaná v podmienkach selekcie puromycínom (1–5 µg/ml). Je vyžadované bezpečnostné opatrenie triedy S1. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zelený fluorescenčný proteín)
Mutational profile	Mutácia: p.Gly464Val, heterozygotná; mutácia: p.Gly13Asp, heterozygotná; mutácia: p.Arg280Lys, homozygotná

Spracovanie

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 1,6 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS

MDA-MB-231-GFP | 305691

Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.
Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte. 7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza