

MDA-MB-231-GFP | 305691

Všeobecné informácie

Description

MDA-MB-231-GFP je fluorescenčne značená varianta široko používaného ľudského rakovinového bunky prsníka MDA-MB-231, ktorá bola geneticky upravená tak, aby exprimovala zelený fluorescenčný proteín (GFP) prostredníctvom lentivírusovej transdukcie. Táto modifikácia umožňuje vizualizáciu a kvantifikáciu dynamiky nádorových buniek v reálnom čase in vitro aj in vivo, čo uľahčuje podrobnú analýzu interakcií medzi nádorom a stromou, bunkovú proliferáciu a metastatické správanie. Rodičovská línia MDA-MB-231 pochádza z pleurálneho výpotku pacientky s trojnásobne negatívnym karcinómom prsníka (TNBC) a vykazuje agresívne, invazívne správanie s mezenchýmovým fenotypom, čo z nej robí základný model pre štúdium patofyziológie TNBC a rezistencie na liečbu.

V experimentoch s ko-kultúrou s ľudskými mezenchýmovými kmeňovými/stromálnymi bunkami (MSC) preukázali bunky MDA-MB-231-GFP výrazne zvýšenú proliferáciu a správanie podporujúce nádor. Štúdie ukázali, že pre tento účinok je rozhodujúci priamy kontakt s MSC, a nie samotné rozpustné faktory. Konkrétne, ko-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 karcinómu prsníka – marker, ktorý sa za štandardných podmienok nevyjadruje. Táto expresia CD90 indukovaná MSC vyžadovala priamu interakciu medzi bunkami a bola čiastočne inhibovaná blokováním medzibunkových spojení alebo Notch signalizácie, čo naznačuje účasť špecifických intercelulárnych komunikačných dráh.

In vivo, koinjekcia buniek MDA-MB-231-GFP s MSC do imunodeficientných myší NOD/scid viedla 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 potvrdilo zistenia in vitro. Spolu tieto štúdie považujú MDA-MB-231-GFP za robustný model na skúmanie interakcií medzi nádorom a stromou, fenotypovej plasticity indukovanej MSC a mechanizmov progresie nádoru v trojnásobne negatívnom karcinóme prsníka.

Organism Ľudské

Tissue Metastatické

Disease Adenokarcinóm prsníka

Metastatic site Pleurálny výpotok

Charakteristika

Age 51 rokov

Gender Ženy

Ethnicity Kaukazský

Morphology Epitelové

MDA-MB-231-GFP | 305691

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 línia ľudského karcinómu prsníka MDA-MB-231 obsahuje konštrukt GFP na fluorescenčné monitorovanie invazívneho správania. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Protein expression GFP

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

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

MDA-MB-231-GFP | 305691**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.

MDA-MB-231-GFP | 305691

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA