Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Splošne informacije

Description	MDA-MB-231-GFP je fluorescenčno označena različica široko uporabljane človeške celične linije raka dojke MDA-MB-231, ki je bila genetsko spremenjena tako, da prek lentiviralne transdukcije izraža zeleni fluorescenčni protein (GFP). Ta modifikacija omogoča vizualizacijo in kvantifikacijo dinamike tumorskih celic v realnem času tako in vitro kot in vivo, kar olajšuje podrobno analizo interakcij med tumorjem in stromo, celične proliferacije ter metastaziranja. Izvorna linija MDA-MB-231 izvira iz plevralnega izliva pacientke s trojno negativnim rakom dojke (TNBC) in kaže agresivno, invazivno vedenje z mezenhimalnim fenotipom, kar jo uvršča med temeljne modele za preučevanje patofiziologije TNBC in odpornosti na zdravljenje. V poskusih s skupno kulturo s človeškimi mezenhimalnimi matičnimi/stromalnimi celicami (MSC) so celice MDA-MB-231-GFP pokazale znatno povečano proliferacijo in tumor spodbujajoče vedenje. Študije so pokazale, da je za ta učinek ključen neposreden stik z MSC, ne pa zgolj topni dejavniki. Natančneje, skupna kultura z MSC je po štirih dneh povzročila 39,5-odstotno povečanje proliferacije celic MDA-MB-231-GFP v primerjavi z monokulturo ter inducirala izražanje CD90 na podskupini celic raka dojke – markerja, ki se v standardnih pogojih ne izraža. Ta izražanje CD90, ki ga povzročajo MSC, je zahtevalo neposredno medcelično interakcijo in je bilo delno zavrto z blokiranjem gap junctionov ali Notch signalizacije, kar kaže na vpletenost specifičnih poti medcelične komunikacije. In vivo je sočasna injekcija celic MDA-MB-231-GFP in MSC v imunodeficientne miši NOD/scid povzročila približno desetkratno povečanje volumna tumorja in povečan metastazni potencial v primerjavi z injekcijo samih rakavih celic. Ti tumorji so kazali povečano vaskularizacijo in višjo sposobnost preživetja ter ohranili manjšinsko populacijo, pozitivno na CD90, kar potrjuje ugotovitve iz in vitro raziskav. Skupaj te študije uvrščajo MDA-MB-231-GFP med zanesljive modele za preučevanje interakcij med tumorjem in stromo, fenotipsko plastičnost, ki jo inducirajo MSC, ter mehanizme napredovanja tumorja pri trojno negativnem raku dojke. **Genetska modifikacija:** Stabilno modificirana z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo za izražanje zelenega fluorescenčnega beljakovinskega reporterja ZsGreen1; ohranjena kot poliklonalna populacija pod selekcijo s puromicinom (1–5 µg/mL). Varnostna stopnja S1/BSL-1.
Organism	Človek
Tissue	Metastatski
Disease	Adenokarcinom dojke
Metastatic site	Plevralni izliv

Značilnosti

Age	51 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški

MDA-MB-231-GFP | 305691

Morphology	Epitelijski
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	MDA-MB-231-GFP (kataloška številka Cytion 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeni reporterni zeleni fluorescenčni protein ZsGreen1, ki je bil vnesen z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna celična populacija je bila vzdrževana pod selekcijo s puromicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se lahko drugod razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (zeleni fluorescenčni protein)
Mutational profile	Mutacija: p.Gly464Val, heterozigotna; mutacija: p.Gly13Asp, heterozigotna; mutacija: p.Arg280Lys, homozigotna

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 1,6 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Gojišče dopolnite s 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

MDA-MB-231-GFP | 305691

Freeze medium	Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.
Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 200 x g 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavrzite. 7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza