

MDA-MB-231-GFP | 305691

Genel bilgi

Description

MDA-MB-231-GFP, yaygın olarak kullanılan MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hattının floresan etiketli bir varyantıdır ve lentiviral transdüksiyon yoluyla yeşil floresan protein (GFP) eksprese etmek üzere tasarlanmıştır. Bu modifikasyon, hem in vitro hem de in vivo olarak tümör hücresi dinamiklerinin gerçek zamanlı olarak görselleştirilmesini ve nicelendirilmesini mümkün kılarak, tümör-stroma etkileşimlerinin, hücrel proliferasyonun ve metastatik davranışın ayrıntılı analizini kolaylaştırır. Ana MDA-MB-231 hattı, üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hastasının plevral efüzyonundan kaynaklanır ve mezenkimal fenotip ile agresif, invaziv davranış sergiler, bu da onu TNBC patofizyolojisi ve tedavi direncini incelemek için temel bir model haline getirir.

İnsan mezenkimal kök/stromal hücreleri (MSC'ler) ile yapılan ortak kültür deneylerinde, MDA-MB-231-GFP hücreleri önemli ölçüde artmış proliferasyon ve tümör teşvik edici davranış sergilemiştir. Çalışmalar, bu etki için çözünür faktörlerin tek başına değil, MSC'lerle doğrudan temasın kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir. Spesifik olarak, MSC'lerle ortak kültür, dört gün sonra MDA-MB-231-GFP hücre proliferasyonunda monokültürle karşılaştırıldığında %39,5'lik bir artışa yol açmış ve standart koşullar altında ifade edilmeyen bir belirteç olan CD90'ın bir alt küme meme kanseri hücresinde ifadesini indüklemiştir. MSC'lerin indüklediği bu CD90 ekspresyonu, doğrudan hücre-hücre etkileşimini gerektirmiş ve gap junction'ları veya Notch sinyalini bloke ederek kısmen inhibe edilmiştir, bu da spesifik hücreler arası iletişim yollarının rol oynadığını göstermektedir.

İn vivo olarak, immün yetmezliği olan NOD/scid farelere MDA-MB-231-GFP hücrelerinin MSC'lerle birlikte enjekte edilmesi, sadece kanser hücrelerinin enjekte edilmesine kıyasla tümör hacminin yaklaşık on kat artmasına ve metastatik potansiyelin artmasına neden oldu. Bu tümörler, yüksek vaskülarizasyon ve daha yüksek canlılık sergiledi ve azınlık CD90-pozitif popülasyonu koruyarak in vitro bulguları doğruladı. Bu çalışmaların tamamı, MDA-MB-231-GFP'yi, tümör-stroma etkileşimlerini, MSC'nin indüklediği fenotipik plastisiteyi ve üçlü negatif meme kanserinde tümör ilerlemesinin mekanizmalarını araştırmak için sağlam bir model olarak konumlandırmaktadır.

Organism İnsan

Tissue Metastatik

Disease Meme adenokarsinomu

Metastatic site Plevral efüzyon

Özellikler

Age 51 yıl

Gender Kadın

Ethnicity Kafkas

Morphology Epitelyal

MDA-MB-231-GFP | 305691

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation MDA-MB-231-GFP (Cytion katalog numarası 305691)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_E2QK

GMO Status GMO-S1: Bu MDA-MB-231 insan meme karsinom hattı, invazif davranışın floresan olarak izlenmesi için bir GFP yapısı içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression GFP

Mutational profile Mutasyon: p.Gly464Val, Heterozigot; Mutasyon: p.Gly13Asp, Heterozigot; Mutasyon: p.Arg280Lys, Homozigot

Elleçleme

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 1.6 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 1.0 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a)

Supplements Ortamı %5 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

MDA-MB-231-GFP | 305691**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Storage
Conditions**

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA