Product sheet

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 proteini (GFP) eksprese edecek şekilde tasarlanmıştır. Bu modifikasyon, hem in vitro hem de in vivo ortamlarda tümör hücresi dinamiklerinin gerçek zamanlı olarak görüntülenmesini ve nicelendirilmesini mümkün kılar; böylece tümör-stroma etkileşimleri, hücresel proliferasyon ve metastatik davranışın ayrıntılı analizini kolaylaştırır. Ana MDA-MB-231 hattı, üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hastasının plevral efüzyonundan elde edilmiştir ve mezenkimal fenotip ile agresif, invaziv bir davranış sergiler; bu da onu TNBC patofizyolojisi ve tedaviye direnci çalışmak için temel bir model haline getirir. İnsan mezenkimal kök/stromal hücreleri (MSC'ler) ile yapılan ortak kültür deneylerinde, MDA-MB-231-GFP hücrelerinin proliferasyonunda ve tümör teşvik edici davranışında önemli ölçüde artış gözlemlenmiştir. Çalışmalar, bu etki için çözünür faktörlerin tek başına etkisinden ziyade MSC'lerle doğrudan temasın kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle, MSC'lerle ortak kültür, tek kültürle karşılaştırıldığında dört gün sonra MDA-MB-231-GFP hücre çoğalmasında %39,5'lik bir artışa yol açmış ve standart koşullar altında eksprese edilmeyen bir belirteç olan CD90'ın bir meme kanseri hücresi alt kümesinde ekspresyonunu tetiklemiştir. MSC'lerin indüklediği bu CD90 ekspresyonu, doğrudan hücre-hücre etkileşimini gerektirmiş ve gap junction'ların veya Notch sinyal yolunun bloke edilmesiyle kısmen engellenmiştir; bu da spesifik hücreler arası iletişim yolaklarının sürece dahil olduğunu göstermektedir. İn vivo olarak, MDA-MB-231-GFP hücrelerinin MSC'lerle birlikte immün yetmezliği olan NOD/scid farelere enjeksiyonu, sadece kanser hücrelerinin enjeksiyonuna kıyasla tümör hacminde yaklaşık on kat artışa ve artmış metastaz potansiyeline yol açmıştır. Bu tümörler, artmış vaskülarizasyon ve daha yüksek canlılık sergiledi ve azınlıkta bir CD90-pozitif popülasyonu muhafaza ederek in vitro bulguları destekledi. Bu çalışmaların tamamı, MDA-MB-231-GFP'yi üçlü negatif meme kanserinde tümör-stroma etkileşimlerini, MSC kaynaklı fenotipik plastisiteyi ve tümör ilerlemesinin mekanizmalarını araştırmak için sağlam bir model olarak konumlandırmaktadır. **Genetik modifikasyon:** ZsGreen1 yeşil floresan protein raportörünü eksprese etmek üzere replikasyon yeteneği olmayan lentiviral transdüksiyon yoluyla stabil bir şekilde modifiye edilmiştir; puromisin seleksiyonu (1–5 µg/mL) altında poliklonal bir popülasyon olarak muhafaza edilir. S1/BSL-1 güvenlik seviyesinde tutulur.
Organism	İnsan
Tissue	Metastatik
Disease	Meme adenokarsinomu
Metastatic site	Plevral efüzyon

Özellikler

Age	51 yıl
Gender	Kadın

MDA-MB-231-GFP | 305691

Ethnicity	Kafkas
Morphology	Epitelyal
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 hücre hattı, replikasyon yeteneği olmayan lentiviral transdüksiyon yoluyla eklenen ve kalıcı olarak entegre edilmiş bir ZsGreen1 yeşil floresan protein raportörünü içerir. Elde edilen poliklonal hücre popülasyonu, puromisin seleksiyonu (1–5 µg/mL) altında muhafaza edilmiştir. S1 güvenlik sınıfı gereklidir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (yeşil floresan protein)
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

MDA-MB-231-GFP | 305691

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