Product sheet

MDA-MB-231-GFP | 305691

Загальна інформація

Description	MDA-MB-231-GFP — це флуоресцентно-мічений варіант широко використовуваної клітинної лінії MDA-MB-231, що походить від раку молочної залози людини, яка була модифікована для експресії зеленого флуоресцентного білка (GFP) за допомогою лентивірусної трансдукції. Ця модифікація дозволяє візуалізувати та кількісно оцінювати динаміку пухлинних клітин у реальному часі як in vitro, так і in vivo, що сприяє детальному аналізу взаємодій між пухлиною та стромою, клітинної проліферації та метастатичної поведінки. Базова лінія MDA-MB-231 походить із плеврального випоту пацієнтки з потрійно-негативним раком молочної залози (TNBC) і демонструє агресивну, інвазивну поведінку з мезенхімальним фенотипом, що робить її основоположною моделлю для вивчення патофізіології TNBC та резистентності до лікування. У експериментах із спільним культивуванням з людськими мезенхімальними стовбуровими/стромальними клітинами (MSC) клітини MDA-MB-231-GFP продемонстрували значно посилену проліферацію та пухлинопромовуючу поведінку. Дослідження показали, що для цього ефекту вирішальне значення має саме прямий контакт із MSC, а не лише розчинні фактори. Зокрема, спільна культивація з МСК призвела до збільшення проліферації клітин MDA-MB-231-GFP на 39,5 % через чотири дні порівняно з монокультурою та індукувала експресію CD90 на підгрупі клітин раку молочної залози — маркера, який не експресується за стандартних умов. Ця індукована МСК експресія CD90 вимагала прямої взаємодії «клітина-клітина» і частково інгібувалася шляхом блокування щілинних з'єднань або сигнального шляху Notch, що вказує на залучення специфічних шляхів міжклітинної комунікації. In vivo спільне введення клітин MDA-MB-231-GFP разом із МСК імунодефіцитним мишам NOD/scid призвело до приблизно десятикратного збільшення об'єму пухлини та посилення метастатичного потенціалу порівняно з введенням лише ракових клітин. Ці пухлини демонстрували підвищену васкуляризацію та вищу життєздатність, а також зберігали меншості CD90-позитивну популяцію, що підтверджує результати досліджень in vitro. У сукупності ці дослідження позиціонують MDA-MB-231-GFP як надійну модель для дослідження взаємодій пухлини зі стромою, індукованої МСК фенотипної пластичності та механізмів прогресування пухлини при потрійно-негативному раку молочної залози. **Генетична модифікація:** Стабільно модифіковано шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції для експресії репортерного зеленого флуоресцентного білка ZsGreen1; утримується як поліклональна популяція під селекцією пуроміцином (1–5 мкг/мл). Рівень біобезпеки S1/BSL-1.
Organism	Людина
Tissue	Метастатичний
Disease	Аденокарцинома молочної залози
Metastatic site	Плевральний випіт

Характеристики

Age	51 рік

MDA-MB-231-GFP | 305691

Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальний
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	MDA-MB-231-GFP (номер за каталогом Cytion 305691)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E2QK
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія містить стабільно інтегрований репортерний зелений флуоресцентний білок ZsGreen1, введений за допомогою реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції. Отриману поліклональну клітинну популяцію підтримували в умовах селекції пуроміцином (1–5 мкг/мл). Необхідний рівень біобезпеки S1. Ця класифікація діє лише на території Німеччини і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (зелений флуоресцентний білок)
Mutational profile	Мутація: p.Gly464Val, гетерозиготна; Мутація: p.Gly13Asp, гетерозиготна; Мутація: p.Arg280Lys, гомозиготна

Обробка

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 1,6 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 1,0 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO3 (Cytion 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 5% FBS

MDA-MB-231-GFP | 305691

Dissociation Reagent	Аккутаза
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.
Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Центрифугуйте суміш при 200 x g протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище. 7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

MDA-MB-231-GFP | 305691

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз