Product sheet

Клітини 4T1-GFP | 305625

Загальна інформація

Description	4T1-GFP — це генетично модифікований похідний штам мишачої клітинної лінії карциноми молочної залози 4T1, який постійно експресує зелений флуоресцентний білок (GFP), що дозволяє візуалізувати та відстежувати пухлинні клітини в режимі реального часу як in vitro, так і in vivo. Базова лінія 4T1 була спочатку отримана зі спонтанно виниклої пухлини молочної залози у миші BALB/c і характеризується як високоонкогенна модель потрійно-негативного раку молочної залози. При ортотопічному введенні в молочну жирову подушку сингенних імунокомпетентних мишей BALB/c клітини 4T1 утворюють агресивні первинні пухлини, які спонтанно метастазують у легені, печінку, лімфатичні вузли та кістки, що дуже точно відтворює прогресування раку молочної залози IV стадії у людини. Варто зазначити, що, як було показано, модель 4T1 утворює остеолітичні кісткові метастази після ортотопічної імплантації, що робить її клінічно значущою моделлю для вивчення поширення раку молочної залози та колонізації скелета. Маркування клітин 4T1 геном GFP дозволяє чутливо виявляти первинні пухлини, циркулюючі пухлинні клітини та метастатичні вогнища за допомогою флуоресцентної мікроскопії, проточної цитометрії та систем візуалізації in vivo. Це полегшує кількісну оцінку метастатичного навантаження, інтравітальну візуалізацію динаміки пухлинних клітин та відстеження взаємодій між пухлинними клітинами та стромальними або імунними клітинами. В ортотопічних та інтракардіальних моделях похідні клітин 4T1, що експресують GFP, дозволяють точно ідентифікувати пухлинні клітини в кістковому мозку, паренхімі легенів та інших місцях метастазування, долаючи обмеження, пов'язані з використанням виключно гістологічного виявлення. Оскільки батьківська лінія 4T1 зберігає незмінні імуногенні взаємодії в сингенних хазяїнах BALB/c, 4T1-GFP особливо підходить для досліджень, присвячених імунній модуляції, ремоделюванню мікросередовища пухлини та формуванню метастатичної ніші в умовах повної імунокомпетентності. З молекулярної точки зору клітини 4T1 демонструють ознаки агресивної, мезенхімальноподібної карциноми молочної залози, включаючи високу інвазивність, резистентність до аноїкісу та потужну здатність до метастазування. Повідомлялося, що варіанти та субклони 4T1 демонструють різний метастатичний тропізм та профілі експресії хемокінів, наприклад, підвищене вироблення CCL4 у похідних з кістковим тропізмом, що підкреслює корисність цієї моделі для аналізу механізмів органоспецифічного метастазування. Як флуоресцентно відстежуваний аналог цієї усталеної метастатичної системи, 4T1-GFP забезпечує потужну платформу для кількісних досліджень метастазування, тестування терапевтичної ефективності, досліджень в галузі імуноонкології, а також аналізу кінетики поширення та колонізації пухлинних клітин in vivo. **Генетична модифікація:** Стабільно модифікована шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції для експресії репортерного білка зеленої флуоресценції ZsGreen1; утримується у вигляді поліклональної популяції під селекцією пуроміцином (1–5 мкг/мл). Рівень біобезпеки S1/BSL-1.
Organism	Миша
Tissue	Молочна залоза
Disease	Злоякісні новоутворення
Metastatic site	Легені (первинне місце метастазування в ортотопічній моделі BALB/c); також печінка, лімфатичні вузли, кістки

Клітини 4T1-GFP | 305625

Applications	Дослідження метастатичного раку молочної залози; відстеження пухлинних клітин за допомогою GFP; ортотопічна імплантація жирової тканини молочної залози; візуалізація in vivo (флуоресценція); оцінка імунотерапії; імунологія раку; біологія метастазування
Synonyms	4T1-A, 4T1.0, 4T1/WT

Характеристики

Age	Вік не вказано
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	4T1-GFP (номер у каталозі Cytion 305625)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_0125
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

Surface antigens	GFP
Antigen expression	ZsGreen1 (зелений флуоресцентний білок)

Клітини 4T1-GFP | 305625

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	12,6 годин
Split ratio	від 1 до 3
Seeding density	Від 1 до 3 x 10^4 клітин/^{см2}
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Клітини 4T1-GFP | 305625

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, зануривши 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.
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