

Клетки MDA-kb2 | 305108

Обща информация

Description

Клетъчната линия MDA-kb2 е човешка клетъчна линия от рак на гърдата, получена от възрастен пациент. Тези клетки са отрицателни за естрогенни рецептори (ER) и положителни за андрогенни рецептори (AR), което ги прави ценни за изследвания, свързани с андрогенните сигнални пътища и тяхното значение при рака на гърдата. Клетъчната линия MDA-kb2 е получена от клетъчната линия на рак на гърдата MDA-MB-453 чрез стабилна трансфекция с репортерна генна конструкция от миши млечен туморен вирус (MMTV)-Luc-нео. Тази генетична модификация позволява използването на MDA-kb2 клетки в биологични тестове за андрогенна и антиандрогенна активност, където те често се използват в Luc репортерни тестове поради стабилната им трансфекция с a-Luc репортерен ген под контрола на промотор, реагиращ на андрогени.

Благодарение на специфичния си рецепторен профил, MDA-kb2 клетките предоставят ключов модел за изследване на ролята на андрогените в прогресията на рака на гърдата и за тестване на ефикасността на потенциални терапевтични средства, насочени към AR пътищата. Тези клетки се култивират в среда Leibovitz's L-15, допълнена с 10% фетално телешко серум, при условия, които не изискват добавка на CO₂, което е нетипична характеристика в сравнение с много други клетъчни линии. Уникалните свойства на MDA-kb2 клетките ги правят незаменим инструмент както в фундаменталните изследвания, така и във фармацевтичното развитие, особено за разбирането на взаимодействията на хормоналните рецептори при рака на гърдата.

Organism

Човек

Tissue

Гърди, Млечна жлеза

Disease

Аденокарцином на гърдата

Metastatic site

Перикарден излив

Synonyms

MDA-Kb2

Характеристики

Age

48 години

Gender

Жена

Morphology

Епителиален

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Клетки MDA-kb2 | 305108

Citation	MDA-kb2 (каталожен номер на Cytion 305108)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6421
GMO Status	GMO-S1: Тази репортерна клетъчна линия за рак на гърдата при човека (MDA-kb2) съдържа конструкция „firefly-Luc“, въведена чрез лентивирусен вектор под хормоночувствителен промотор, което позволява провеждането на тестове за глюкокортикоидни и андрогенни рецептори. Въмкнатата секвенция е стабилно интегрирана. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други държави.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Клетъчната линия експресира firefly-Luc под контрола на MMTV-промотора, който съдържа елементи на отговор както за глюкокортикоидните рецептори (GR), така и за андрогенните рецептори (AR)
---------------------------	---

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MDA-kb2 | 305108

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MDA-kb2 | 305108

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.