

Buňky MDA-kb2 | 305108**Obecné informace****Description**

Buněčná linie MDA-kb2 je lidská buněčná linie rakoviny prsu odvozená od dospělé pacientky. Tyto buňky jsou negativní na estrogenový receptor (ER) a pozitivní na androgenový receptor (AR), což z nich činí cenný materiál pro studie zabývající se signálními drahami androgenů a jejich vlivem na rakovinu prsu. Buněčná linie MDA-kb2 byla odvozena z buněčné linie rakoviny prsu MDA-MB-453 stabilní transfekcí konstruktů reportérového genu myšího prsního nádorového viru (MMTV)-Luc-neo. Tato genetická modifikace umožňuje použití buněk MDA-kb2 v biologických testech androgenní a antiandrogenní aktivity, kde se často využívají v testech s Luc-reporterem díky stabilní transfekci s a-Luc-reporterovým genem pod kontrolou promotoru reagujícího na androgeny.

Díky svému specifickému profilu receptorů představují buňky MDA-kb2 klíčový model pro zkoumání role androgenů v progresi rakoviny prsu a pro testování účinnosti potenciálních terapeutických látek zaměřených na AR dráhy. Tyto buňky se kultivují v Leibovitzově médiu L-15 doplněném 10 % fetálního bovinního séra, za podmínek, které nevyžadují doplňování CO₂, což je ve srovnání s mnoha jinými buněčnými liniemi atypická vlastnost. Díky svým jedinečným vlastnostem jsou buňky MDA-kb2 nepostradatelným nástrojem jak v základním výzkumu, tak ve farmaceutickém vývoji, zejména pro pochopení interakcí hormonálních receptorů u rakoviny prsu.

Organism Člověk**Tissue** Prsa, mléčná žláza**Disease** Adenokarcinom prsu**Metastatic site** Perikardiální výpotek**Synonyms** MDA-Kb2**Charakteristika****Age** 48 let**Gender** Ženy**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** MDA-kb2 (katalogové číslo Cytion 305108)

Buňky MDA-kb2 | 305108**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6421**GMO Status** GMO-S1: Tato lidská reportérová buněčná linie pro rakovinu prsu (MDA-kb2) obsahuje konstrukt firefly-Luc, který byl zaveden pomocí lentivirového vektoru pod promotorem reagujícím na hormony, což umožňuje provádět testy na glukokortikoidové a androgenní receptory. Vložka je stabilně integrována. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** Tato buněčná linie exprimuje gen firefly-Luc pod kontrolou promotoru MMTV, který obsahuje signální sekvence pro glukokortikoidové receptory (GR) i androgenní receptory (AR)**Zpracování****Culture Medium** Leibovitz's L-15, w: 2,0 mM L-Glutamin, 0,55 g/l NaHCO₃ (Tento produkt nedodáváme; zvažte prosím jiné dodavatele. Pokud potřebujete další pomoc, dejte nám prosím vědět)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky MDA-kb2 | 305108

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Buňky MDA-kb2 | 305108

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.