

## MDA-kb2 rakud | 305108

## Üldine teave

## Description

MDA-kb2 rakuliin on täiskasvanud patsiendilt saadud inimese rinnavähi rakuliin. Need rakud on östrogeenireseptori (ER) negatiivsed ja androgeenireseptori (AR) positiivsed, mistõttu on need väärtuslikud uuringutes, mis käsitlevad androgeeni signaaliteid ja nende mõju rinnavähile. MDA-kb2 rakuliin saadi rinnavähi rakuliinist MDA-MB-453 stabiilse transfektsiooni teel hiire rinnavähi viiruse (MMTV)-Luc-neo reportergeeni konstruktiga. See geneetiline modifikatsioon võimaldab kasutada MDA-kb2 rakke androgeense ja antiandrogeense aktiivsuse biotestides, kus neid kasutatakse sageli in-Luc reporteranalüüsides tänu nende stabiilsele transfektsioonile a-Luc reportergeeniga androgeenile reageeriva promotori kontrolli all.

Tänu oma spetsiifilisele retseptoriprofiilile pakuvad MDA-kb2 rakud olulist mudelit androgeenide rolli uurimiseks rinnavähi progresseerumisel ning AR-signaale sihtivate potentsiaalsete ravimite efektiivsuse testimiseks. Neid rakke kasvatatakse Leibovitz'i L-15 keskkonnas, millele on lisatud 10% loote veise seerumit, tingimustes, mis ei vaja CO<sub>2</sub> lisamist, mis on ebatüüpiline omadus võrreldes paljude teiste rakuliinidega. MDA-kb2 rakkude unikaalsed omadused muudavad need asendamatuks vahendiks nii alusuuringutes kui ka ravimiarenduses, eriti rinnavähi hormoonretseptorite vastasmõju mõistmisel.

**Organism** Inimene

**Tissue** Rind, rinnanäärme

**Disease** Rinna adenokartsinoom

**Metastatic site** Perikardiaväljaheide

**Synonyms** MDA-Kb2

## Omadused

**Age** 48 aastat

**Gender** Naised

**Morphology** Epiteel

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** MDA-kb2 (Cytioni katalooginumber 305108)

## MDA-kb2 rakud | 305108

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_6421**GMO Status** GMO-S1: See inimese rinnavähi reporterrakuliin (MDA-kb2) sisaldab hormoonitundliku promootori all lentiviirusvektori kaudu viidud tulikärbse-Luc-konstrukti, mis võimaldab glükokortikoidi- ja androgeenireseptori analüüse. Insert on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** See rakuliin ekspresseerib firefly-Luc-i MMTV-promootori kontrolli all, mis sisaldab nii glükokortikoidireseptorite (GR) kui ka androgeenireseptorite (AR) vastuselementide**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## MDA-kb2 rakud | 305108

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes  $-150$  kuni  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  juures. Säilitamine temperatuuril  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

**MDA-kb2 rakud | 305108**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.