

Cellules MDA-kb2 | 305108

Informations générales

Description

La lignée cellulaire MDA-kb2 est une lignée cellulaire de cancer du sein humain dérivée d'une patiente adulte. Ces cellules sont négatives pour les récepteurs des œstrogènes (ER) et positives pour les récepteurs des androgènes (AR), ce qui les rend particulièrement utiles pour les études portant sur les voies de signalisation des androgènes et leur rôle dans le cancer du sein. La lignée cellulaire MDA-kb2 a été dérivée de la lignée cellulaire de cancer du sein MDA-MB-453 par transfection stable avec un construct génétique rapporteur MMTV-Luc-neo (virus de la tumeur mammaire de la souris). Cette modification génétique permet d'utiliser les cellules MDA-kb2 dans des bioessais évaluant les activités androgéniques et anti-androgéniques, où elles sont souvent employées dans des tests de reporter in-Luc en raison de leur transfection stable avec un gène rapporteur a-Luc sous le contrôle d'un promoteur sensible aux androgènes.

En raison de leur profil récepteur spécifique, les cellules MDA-kb2 constituent un modèle crucial pour étudier le rôle des androgènes dans la progression du cancer du sein et pour tester l'efficacité d'agents thérapeutiques potentiels ciblant les voies de l'AR. Ces cellules sont cultivées dans un milieu Leibovitz L-15 complété par 10 % de sérum foetal bovin, dans des conditions ne nécessitant pas d'apport en CO₂, ce qui constitue une caractéristique atypique par rapport à de nombreuses autres lignées cellulaires. Les propriétés uniques des cellules MDA-kb2 en font un outil indispensable tant pour la recherche fondamentale que pour le développement pharmaceutique, en particulier pour comprendre les interactions des récepteurs hormonaux dans le cancer du sein.

Organism Humain

Tissue Sein, glande mammaire

Disease Adénocarcinome du sein

Metastatic site Épanchement péricardique

Synonyms MDA-Kb2

Caractéristiques

Age 48 ans

Gender Femme

Morphology Épithéliale

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Cellules MDA-kb2 | 305108

Citation	MDA-kb2 (numéro de catalogue Cytion 305108)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6421
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire de référence pour le cancer du sein humain (MDA-kb2) contient un construct Luc-luciole introduit par vecteur lentiviral sous un promoteur sensible aux hormones, ce qui permet de réaliser des tests sur les récepteurs des glucocorticoïdes et des androgènes. L'insert est intégré de manière stable. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	Cette lignée cellulaire exprime la protéine Luc de luciole sous le contrôle du promoteur MMTV, qui contient des éléments de réponse à la fois pour les récepteurs des glucocorticoïdes (GR) et pour les récepteurs des androgènes (AR)
---------------------------	--

Manipulation

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820400a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1:2 à 1:4

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
----------------------	------------------------

Cellules MDA-kb2 | 305108

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules MDA-kb2 | 305108

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.