

MDA-kb2 sejtek | 305108

Általános információk

Description

Az MDA-kb2 sejtvonal egy felnőtt betegből nyert emberi emlőrákos sejtvonal. Ezek a sejtek ösztrogénreceptor-negatívak (ER-) és androgénreceptor-pozitívak (AR+), ami értékessé teszi őket az androgén jelátviteli útvonalakat és azok emlőrákban betöltött szerepét vizsgáló kutatások számára. Az MDA-kb2 sejtvonalat az MDA-MB-453 emlőrák-sejtvonalból nyerték ki, egér emlőtumorvírus (MMTV)-Luc-neo riportergén-konstrukttal történő stabil transzfekcióval. Ez a genetikai módosítás lehetővé teszi az MDA-kb2 sejtek felhasználását androgén és antiandrogén aktivitásra vonatkozó biológiai vizsgálatokban, ahol gyakran alkalmazzák őket in-Luc riporter vizsgálatokban, mivel stabil transzfekcióval rendelkeznek az androgénre reagáló promóter által szabályozott a-Luc riporter génnel.

Specifikus receptorprofiljuknak köszönhetően az MDA-kb2 sejtek döntő jelentőségű modellt nyújtanak az androgének szerepének vizsgálatához az emlőrák progressziójában, valamint az AR-útvonalakat célzó potenciális terápiás szerek hatékonyságának teszteléséhez. Ezeket a sejteket Leibovitz L-15 táptalajban tenyésztik, 10% borjúsérummal kiegészítve, olyan körülmények között, amelyek nem igényelnek CO₂-kiegészítést, ami atipikus jellemző sok más sejtvonalhoz képest. Az MDA-kb2 sejtek egyedülálló tulajdonságai miatt nélkülözhetetlen eszközzé válnak mind az alap kutatásban, mind a gyógyszerfejlesztésben, különösen az emlőrákban fellépő hormonreceptor-kölcsönhatások megértése szempontjából.

Organism

Emberi

Tissue

Mell, Emlőmirigy

Disease

Mell adenokarcinóma

Metastatic site

Perikardiális folyadékgyülem

Synonyms

MDA-Kb2

Jellemzők

Age

48 év

Gender

Női

Morphology

Epithelialis

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

MDA-kb2 sejtek | 305108

Citation	MDA-kb2 (Cytion katalógusszám: 305108)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6421
GMO Status	GMO-S1: Ez az emberi emlőrákos riporter sejtvonallal (MDA-kb2) egy hormonérzékeny promóter alatt, lentivirális vektoron keresztül bejuttatott szentjánosbogár-Luc-konstrukciót tartalmaz, amely lehetővé teszi a glükokortikoid- és androgénreceptor-vizsgálatokat. A beillesztett szekvencia stabilan integrálódott. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression	A sejtvonallal az MMTV-promóter szabályozása alatt expresszálja a szentjánosbogár-Luc-ot, amely mind a glükokortikoid-receptorok (GR), mind az androgénreceptorok (AR) számára tartalmaz válaszelemeket
---------------------------	---

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

MDA-kb2 sejtek | 305108

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

MDA-kb2 sejtek | 305108

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.