

Cellule MDA-kb2 | 305108

Informazioni generali

Description

La linea cellulare MDA-kb2 è una linea cellulare di carcinoma mammario umano derivata da una paziente adulta. Queste cellule sono negative al recettore degli estrogeni (ER) e positive al recettore degli androgeni (AR), il che le rende preziose per gli studi riguardanti le vie di segnalazione degli androgeni e le loro implicazioni nel carcinoma mammario. La linea cellulare MDA-kb2 è stata derivata dalla linea cellulare del carcinoma mammario MDA-MB-453 mediante trasfezione stabile con un costrutto genico reporter MMTV-Luc-neo (Mouse Mammary Tumor Virus). Questa modificazione genetica consente l'uso delle cellule MDA-kb2 in bioanalisi per le attività androgeniche e antiandrogeniche, dove sono spesso utilizzate in saggi con reporter Luc grazie alla loro trasfezione stabile con il gene reporter a-Luc sotto il controllo di un promotore sensibile agli androgeni.

Grazie al loro specifico profilo recettoriale, le cellule MDA-kb2 costituiscono un modello fondamentale per lo studio del ruolo degli androgeni nella progressione del cancro al seno e per la valutazione dell'efficacia di potenziali agenti terapeutici mirati alle vie dell'AR. Queste cellule vengono coltivate in terreno Leibovitz L-15 integrato con siero fetale bovino al 10%, in condizioni che non richiedono l'aggiunta di CO₂, una caratteristica atipica rispetto a molte altre linee cellulari. Le proprietà uniche delle cellule MDA-kb2 le rendono uno strumento indispensabile sia nella ricerca di base che nello sviluppo farmaceutico, in particolare per comprendere le interazioni dei recettori ormonali nel cancro al seno.

Organism Umano

Tissue Seno, ghiandola mammaria

Disease Adenocarcinoma della mammella

Metastatic site Versamento pericardico

Synonyms MDA-Kb2

Caratteristiche

Age 48 anni

Gender Donna

Morphology Epiteliale

Growth properties Aderente

Dati normativi

Cellule MDA-kb2 | 305108

Citation	MDA-kb2 (numero di catalogo Cytion 305108)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6421
GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare reporter per il carcinoma mammario umano (MDA-kb2) contiene un costrutto firefly-Luc introdotto tramite vettore lentivirale sotto un promotore sensibile agli ormoni, che consente di effettuare test sui recettori dei glucocorticoidi e degli androgeni. L'inserto è integrato in modo stabile. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Protein expression	La linea cellulare esprime la proteina firefly-Luc sotto il controllo del promotore MMTV, che contiene elementi di risposta sia per i recettori dei glucocorticoidi (GR) che per i recettori degli androgeni (AR)
---------------------------	---

Manipolazione

Culture Medium	Leibovitz's L-15, w: 2,0 mM L-Glutamina, 0,55 g/L NaHCO ₃ (Non forniamo questo prodotto; si prega di considerare altri fornitori. Vi preghiamo di comunicarci se avete bisogno di ulteriore assistenza)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1:2 a 1:4
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule MDA-kb2 | 305108

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Cellule MDA-kb2 | 305108

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.