

MDA-kb2 ląstelės | 305108

Bendra informacija

Description

MDA-kb2 ląstelių linija yra žmogaus krūties vėžio ląstelių linija, gauta iš suaugusio paciento. Šios ląstelės yra estrogenų receptorių (ER) neigiamos ir androgenų receptorių (AR) teigiamos, todėl jos yra vertingos tyrimams, susijusiems su androgenų signalizacijos keliais ir jų reikšme krūties vėžiui. MDA-kb2 ląstelių linija buvo gauta iš krūties vėžio ląstelių linijos MDA-MB-453, stabiliai transfekuojant pelės pieno liaukos naviko virusu (MMTV)-Luc-neo reporterio geno konstruktu. Ši genetinė modifikacija leidžia naudoti MDA-kb2 ląsteles androgeninio ir antiandrogeninio aktyvumo biologiniuose tyrimuose, kur jos dažnai naudojamos in-Luc reporteriniuose tyrimuose dėl stabilios transfekcijos su a-Luc reporteriniu genu, kontroliuojamu androgenams jautraus promotoriaus.

Dėl savo specifinio receptorių profilio MDA-kb2 ląstelės yra svarbus modelis tirti androgenų vaidmenį krūties vėžio progresavime ir tikrinti potencialių terapinių agentų, nukreiptų į AR takus, veiksmingumą. Šios ląstelės auginamos Leibovitz L-15 terpėje, papildytoje 10 % veršelių serumu, sąlygomis, kuriose nereikia papildomo CO₂, o tai yra netipinė savybė, palyginti su daugeliu kitų ląstelių linijų. Dėl unikalių savybių MDA-kb2 ląstelės yra nepakeičiamas įrankis tiek fundamentiniuose tyrimuose, tiek farmacijos plėtroje, ypač siekiant suprasti hormonų receptorių sąveiką krūties vėžio atveju.

Organism Žmogus

Tissue Krūtys, Pieno liauka

Disease Krūties adenokarcinoma

Metastatic site Perikardo išskyros

Synonyms MDA-Kb2

Charakteristikos

Age 48 metai

Gender Moteris

Morphology Epitelis

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation MDA-kb2 (Cytion katalogo numeris 305108)

MDA-kb2 ląstelės | 305108

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6421**GMO Status** GMO-S1: Ši žmogaus krūties vėžio reporterinė ląstelių linija (MDA-kb2) turi „firefly-Luc“ konstrukta, įterptą per lentivirusinį vektorių pagal hormonams jautrų promotorių, leidžiantį atlikti gliukokortikoidų ir androgenų receptorių tyrimus. Įterptas fragmentas yra stabiliai integruotas. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.**Biomolekuliniai duomenys****Protein expression** Ši ląstelių linija ekspresuoja „firefly-Luc“ geną, kurio ekspresiją reguliuoja MMTV promotorius, turintis tiek gliukokortikoidų receptorių (GR), tiek androgenų receptorių (AR) atsaką reguliuojančius elementus**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MDA-kb2 ląstelės | 305108

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

MDA-kb2 ląstelės | 305108

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.