

**Komórki MDA-kb2 | 305108****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa MDA-kb2 to ludzka linia komórkowa raka piersi pochodząca od dorosłej pacjentki. Komórki te są ujemne pod względem receptora estrogenowego (ER) i dodatkowo pod względem receptora androgenowego (AR), co czyni je cennym materiałem do badań dotyczących szlaków sygnałowych androgenów i ich znaczenia w raku piersi. Linia komórkowa MDA-kb2 została wyhodowana z linii komórkowej raka piersi MDA-MB-453 poprzez stabilną transfekcję konstrukcją genową myszego wirusa nowotworu sutka (MMTV)-Luc-neo. Ta modyfikacja genetyczna pozwala na wykorzystanie komórek MDA-kb2 w testach biologicznych dotyczących aktywności androgennej i antyandrogennej, gdzie są one często stosowane w testach z reporterem Luc ze względu na stabilną transfekcję genem reporterowym a-Luc pod kontrolą promotora reagującego na androgeny.

Ze względu na swój specyficzny profil receptorów komórki MDA-kb2 stanowią kluczowy model do badania roli androgenów w progresji raka piersi oraz do testowania skuteczności potencjalnych środków terapeutycznych ukierunkowanych na szlaki AR. Komórki te są hodowane w pożywce Leibovitz L-15 uzupełnionej 10% surowicą płodową bydłą, w warunkach niewymagających suplementacji CO<sub>2</sub>, co stanowi nietypową cechę w porównaniu z wieloma innymi liniami komórkowymi. Unikalne właściwości komórek MDA-kb2 sprawiają, że są one nieodzownym narzędziem zarówno w badaniach podstawowych, jak i rozwoju farmaceutycznym, szczególnie w zrozumieniu interakcji receptorów hormonalnych w raku piersi.

**Organism** Człowiek**Tissue** Piersi, gruczoł sutkowy**Disease** Gruczolakorak piersi**Metastatic site** Wysiłek osierdziowy**Synonyms** MDA-Kb2**Charakterystyka****Age** 48 lat**Gender** Kobieta**Morphology** Nabłonek**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

**Komórki MDA-kb2 | 305108**

<b>Citation</b>	MDA-kb2 (numer katalogowy Cytion 305108)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_6421
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Ta ludzka linia komórkowa służąca jako reporter w badaniach nad rakiem piersi (MDA-kb2) zawiera konstrukt firefly-Luc wprowadzony za pomocą wektora lentiwirusowego pod kontrolą promotora reagującego na hormony, co umożliwi przeprowadzanie testów z wykorzystaniem receptorów glikokortykoidowych i androgenowych. Wstawka jest stabilnie zintegrowana. Niniejsza klasyfikacja obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

**Dane biomolekularne**

<b>Protein expression</b>	Linia komórkowa wyraża gen firefly-Luc pod kontrolą promotora MMTV, który zawiera elementy odpowiedzi zarówno dla receptorów glikokortykoidowych (GR), jak i receptorów androgenowych (AR)
---------------------------	--

**Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Split ratio</b>	1:2 do 1:4
<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu

## Komórki MDA-kb2 | 305108

### Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki MDA-kb2 | 305108

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.