

Células MDA-kb2 | 305108

Informações gerais

Description

A linha celular MDA-kb2 é uma linha celular de cancro da mama humana derivada de uma doente adulta. Estas células são negativas para o recetor de estrogénio (ER) e positivas para o recetor de androgénios (AR), o que as torna valiosas para estudos que envolvam as vias de sinalização dos androgénios e as suas implicações no cancro da mama. A linha celular MDA-kb2 foi derivada da linha celular de cancro da mama MDA-MB-453, através de transfecção estável com uma construção do gene repórter MMTV-Luc-neo (vírus do tumor mamário de rato). Esta modificação genética permite a utilização de células MDA-kb2 em bioensaios para atividades androgénicas e antiandrogénicas, onde são frequentemente utilizadas em ensaios com o repórter Luc devido à sua transfecção estável com o gene repórter a-Luc sob o controlo de um promotor sensível aos androgénios.

Devido ao seu perfil específico de recetores, as células MDA-kb2 constituem um modelo crucial para investigar o papel dos androgénios na progressão do cancro da mama e para testar a eficácia de potenciais agentes terapêuticos que visam as vias do AR. Estas células são cultivadas em meio Leibovitz L-15 suplementado com 10% de soro fetal bovino, em condições que não requerem suplementação de CO_2 , o que é uma característica atípica em comparação com muitas outras linhas celulares. As propriedades únicas das células MDA-kb2 tornam-nas uma ferramenta indispensável tanto na investigação básica como no desenvolvimento farmacêutico, particularmente na compreensão das interações dos recetores hormonais no cancro da mama.

Organism Humano

Tissue Mama, glândula mamária

Disease Adenocarcinoma da mama

Metastatic site Derrame pericárdico

Synonyms MDA-Kb2

Caraterísticas

Age 48 anos

Gender Feminino

Morphology Epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Células MDA-kb2 | 305108

Citation	MDA-kb2 (número de catálogo da Cytion 305108)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6421
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular repórter de cancro da mama humano (MDA-kb2) contém uma construção firefly-Luc introduzida através de um vetor lentiviral sob um promotor sensível a hormonas, permitindo a realização de ensaios com receptores de glucocorticóides e androgénios. A inserção está integrada de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression	A linha celular expressa a proteína firefly-Luc sob o controlo do promotor MMTV, que contém elementos de resposta tanto para os recetores de glucocorticóides (GR) como para os recetores de androgénios (AR)
---------------------------	---

Manuseamento

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1:2 a 1:4
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células MDA-kb2 | 305108

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células MDA-kb2 | 305108

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.