

Клетки MCA-3D | 400437

Обща информация

Description

Клетъчната линия MCA-3D е получена от първични миши епидермални култури, които проявяват устойчивост към индуцираната от калций терминална диференциация. Тези клетки първоначално са третирани с канцерогените N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин (MNNG) или 7,12-диметилбенз[а]антрацен (DMBA), а впоследствие са изложени на 12-O-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетат (TPA). Устойчивостта към терминална диференциация е оценена чрез повишаване на нивата на калций в хранителната среда до 1,2 mM, което селективно позволява растежа на трансформираните клетки, докато нормалните клетки обикновено претърпяват терминална диференциация и смърт.

Клетъчната линия MCA-3D показва епителна морфология и образува добре дефинирани колонии в културата. Ултраструктурният анализ разкрива, че клетките MCA-3D съдържат кератинови нишки и дезмосоми, които са показателни за техния епителен произход и предполагат поддържане на известна степен на нормална кератиноцитна диференциация. Точното количество на тези структури обаче може да варира между субпопулациите в рамките на линията.

Клетките MCA-3D са тествани за туморогенност чрез подкожно инжектиране в сингенни новородени Balb/c, като резултатите показват, че тази линия не е туморогенна, дори след продължително култивиране в условия на високо съдържание на калций. Освен това MCA-3D клетките не растат в мек агар, което допълнително потвърждава техния немалигнен фенотип. Биохимичните тестове за активност на гама-глутамил трансептидаза (GGT) и транслугтаминазна активност показват, че клетките MCA-3D са отрицателни за GGT, а тяхната транслугтаминазна активност не корелира с туморен потенциал, което съответства на класификацията им като нетуморогенни.

Като цяло клетъчната линия MCA-3D служи като модел за изучаване на ранните етапи на канцерогенезата и факторите, които влияят върху прогресията от пренеопластични лезии до напълно злокачествени тумори.

Organism Мишка

Tissue Кожа

Synonyms MCA3D, MCa3D, MCA/3D, MCA 3D

Характеристики

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Жена

Cell type Кератиноцити

Growth properties Придържащи се

Клетки MCA-3D | 400437

Регулаторни данни

Citation	MCA-3D (каталожен номер 400437 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5797

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820600a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	TrypLE Express
Subculturing	Отстранете средата и изплакнете адхезираните клетки, като използвате PBS без калций и магнезий (3-5 ml PBS за T25, 5-10 ml за колби за клетъчни култури T75). Добавете TrypLE Express (1-2 ml за T25, 2,5 ml за колба за клетъчни култури T75), като клетъчният лист трябва да бъде покрит напълно. Инкубирайте при 37 градуса по Целзий за 15-20 минути. Внимателно ресуспендирайте клетките с хранителна среда (10 ml), центрофугирайте за 5 минути при 300xg, ресуспендирайте клетките в прясна хранителна среда и разпределете в нови колби, които съдържат прясна хранителна среда.
Seeding density	0,5 до 1 x 10 ⁴ клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10 ⁴ клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MCA-3D | 400437**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MCA-3D | 400437

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.