

Buňky MCA-3D | 400437

Obecné informace

Description

Buněčná linie MCA-3D je odvozena z primárních myších epidermálních kultur, které vykazují odolnost vůči vápníkem indukované terminální diferenciaci. Tyto buňky byly nejprve ošetřeny karcinogeny N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidinem (MNNG) nebo 7,12-dimethylbenz[a]anthracenem (DMBA) a následně vystaveny působení 12-O-tetradekanoylforbol-13-acetátu (TPA). Odolnost vůči terminální diferenciaci byla hodnocena zvýšením hladiny vápníku v kultivačním médiu na 1,2 mM, což selektivně umožňuje růst transformovaných buněk, zatímco normální buňky obvykle podléhají terminální diferenciaci a smrti.

Buněčná linie MCA-3D vykazuje epitelovou morfologii a v kultuře tvoří dobře definované kolonie. Ultrastrukturální analýza ukazuje, že buňky MCA-3D obsahují keratinová vlákna a desmosomy, které svědčí o jejich epiteliálním původu a naznačují zachování určitého stupně normální keratinocytární diferenciaci. Přesné množství těchto struktur se však může u jednotlivých subpopulací v rámci linie lišit.

Buňky MCA-3D byly testovány na tumorigenitu subkutánní injekcí syngenním novorozencům Balb/c, přičemž výsledky ukázaly, že tato linie není tumorigenní ani po dlouhodobé kultivaci v podmínkách s vysokým obsahem vápníku. Buňky MCA-3D navíc nerostou v měkkém agaru, což dále podporuje jejich nenádorový fenotyp. Biochemické testy aktivity gama glutamyl transpeptidázy (GGT) a transglutaminázy ukázaly, že buňky MCA-3D jsou negativní na GGT a jejich transglutaminázová aktivita nekoreluje s nádorovým potenciálem, což odpovídá jejich nenádorové klasifikaci.

Celkově lze říci, že buněčná linie MCA-3D slouží jako model pro studium časných stadií karcinogeneze a faktorů, které ovlivňují přechod od preneoplastických lézí k plně maligním nádorům.

Organism Myš

Tissue Kůže

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

Charakteristika

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Ženy

Cell type Keratinocyty

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation MCA-3D (katalogové číslo Cytion 400437)

Buňky MCA-3D | 400437

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilní glutamin, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820600a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte médium a opláchněte adheované buňky pomocí PBS bez vápníku a hořčičku (3-5 ml PBS pro baňky T25, 5-10 ml pro baňky T75). Přidejte TrypleExpress (1-2 ml na T25, 2,5 ml na baňku s buněčnou kulturou T75), buněčný list musí být zcela pokryt. Inkubujte při 37 °C po dobu 15-20 minut. Opatrně resuspendujte buňky s médiem (10 ml), odstředějte 5 minut při 300xg, resuspendujte buňky v čerstvém médiu a rozdělte do nových baněk, které obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8**Seeding density** 0,5 až 1×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky MCA-3D | 400437

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x