

MCA-3D-celler | 400437

Generel information

Description

MCA-3D-cellelinjen stammer fra primære epidermale kulturer fra mus, der udviser resistens over for calcium-induceret terminal differentiering. Disse celler blev først behandlet med de kræftfremkaldende stoffer N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) eller 7,12-dimethylbenz[a]anthracen (DMBA) og derefter udsat for 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA). Modstanden mod terminal differentiering blev vurderet ved at hæve calciumniveauet i kulturmediet til 1,2 mM, hvilket selektivt giver mulighed for vækst af transformerede celler, mens normale celler typisk gennemgår terminal differentiering og død.

MCA-3D-cellelinjen har en epithelial morfologi og danner veldefinerede kolonier i kultur. Ultrastrukturelle analyser viser, at MCA-3D-celler indeholder keratinfiler og desmosomer, som er tegn på deres epitheliale oprindelse og tyder på, at de opretholder en vis grad af normal keratinocytdifferentiering. Den nøjagtige mængde af disse strukturer kan dog variere mellem subpopulationer inden for linjen.

MCA-3D-celler er blevet testet for tumorigenicitet ved subkutan injektion i syngene Balb/c-nonater, og resultaterne viser, at denne linje ikke er tumorigen, selv efter langvarig dyrkning under høje calciumforhold. Desuden vokser MCA-3D-cellerne ikke i blød agar, hvilket yderligere understøtter deres ikke-maligne fænotype. Biokemiske analyser for gamma-glutamyl-transpeptidase (GGT)-aktivitet og transglutaminase-aktivitet har vist, at MCA-3D-celler er negative for GGT, og at deres transglutaminase-aktivitet ikke korrelerer med tumorigenisk potentiale, hvilket stemmer overens med deres ikke-tumorigeniske klassificering.

Samlet set fungerer MCA-3D-cellelinjen som en model til at studere de tidlige stadier af kræftfremkaldelse og de faktorer, der påvirker udviklingen fra præneoplastiske læsioner til fuldt maligne tumorer.

Organism Mus

Tissue Hud

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

Karakteristika

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Kvinde

Cell type Keratinocyt

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation MCA-3D (Cytion katalognummer 400437)

MCA-3D-celler | 400437

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820600a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** TrypLE Express**Subculturing** Fjern mediet, og skyl de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (3-5 ml PBS for T25, 5-10 ml for T75-cellekulturflasker). Tilsæt TrypleExpress (1-2 ml pr. T25, 2,5 ml pr. T75-cellekulturkolbe), celloarket skal være helt dækket. Inkuber ved 37 grader Celsius i 15-20 minutter. Resuspender forsigtigt cellerne med medium (10 ml), centrifuger i 5 minutter ved 300xg, resuspender cellerne i frisk medium og fordel dem i nye kolber, der indeholder frisk medium.**Seeding density** 0,5 til 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopræservingmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

MCA-3D-celler | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

MCA-3D-celler | 400437

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.