

MCA-3D-Zellen | 400437

Allgemeine Informationen

Description

Die MCA-3D-Zelllinie stammt aus primären Epidermis-Kulturen der Maus, die eine Resistenz gegen die durch Kalzium induzierte terminale Differenzierung aufweisen. Diese Zellen wurden zunächst mit den Karzinogenen N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) oder 7,12-Dimethylbenz[a]anthracen (DMBA) behandelt und anschließend mit 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA) behandelt. Die Resistenz gegen die terminale Differenzierung wurde durch Erhöhung des Kalziumspiegels im Kulturmedium auf 1,2 mM ermittelt, was selektiv das Wachstum der transformierten Zellen ermöglicht, während normale Zellen in der Regel eine terminale Differenzierung durchlaufen und absterben.

Die MCA-3D-Zelllinie weist eine epitheliale Morphologie auf und bildet in der Kultur gut definierte Kolonien. Ultrastrukturelle Analysen zeigen, dass MCA-3D-Zellen Keratinfilamente und Desmosomen enthalten, was auf ihren epithelialen Ursprung hinweist und auf die Aufrechterhaltung eines gewissen Maßes an normaler Keratinozytendifferenzierung hindeutet. Das genaue Vorkommen dieser Strukturen kann jedoch je nach Subpopulation innerhalb der Linie variieren.

MCA-3D-Zellen wurden durch subkutane Injektion in syngene Balb/c-Neugeborene auf ihre Tumorigenität getestet. Die Ergebnisse zeigen, dass diese Linie selbst nach längerer Kultur unter hohen Kalziumbedingungen nicht tumorigen ist. Darüber hinaus wachsen die MCA-3D-Zellen nicht in weichem Agar, was ihren nicht-malignen Phänotyp weiter unterstützt. Biochemische Tests auf Gamma-Glutamyl-Transpeptidase (GGT)-Aktivität und Transglutaminase-Aktivität haben gezeigt, dass MCA-3D-Zellen negativ für GGT sind und ihre Transglutaminase-Aktivität nicht mit dem tumorigenen Potenzial korreliert, was mit ihrer nicht-tumorigenen Klassifizierung übereinstimmt.

Insgesamt dient die MCA-3D-Zelllinie als Modell für die Untersuchung der frühen Stadien der Karzinogenese und der Faktoren, die das Fortschreiten von präneoplastischen Läsionen zu vollständig bösartigen Tumoren beeinflussen.

Organism Maus

Tissue Haut

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

Merkmale

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Weiblich

Cell type Keratinozyten

Growth properties Adhärent

MCA-3D-Zellen | 400437

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiles Glutamin, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820600a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Medium entfernen und die anhaftenden Zellen mit PBS ohne Kalzium und Magnesium spülen (3-5 ml PBS für T25-, 5-10 ml für T75-Zellkulturflaschen). TrypleExpress zugeben (1-2 ml pro T25-, 2,5 ml pro T75-Zellkulturflasche), wobei das Zellblatt vollständig bedeckt sein muss. 15-20 Minuten bei 37 Grad Celsius inkubieren. Die Zellen vorsichtig mit Medium (10 ml) resuspendieren, 5 Minuten bei 300xg zentrifugieren, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Flaschen mit frischem Medium geben.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:8
Seeding density	0,5 bis 1×10^4 Zellen/cm ²
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm ² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

MCA-3D-Zellen | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

MCA-3D-Zellen | 400437

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,x