

Κύτταρα MCA-3D | 400437

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά MCA-3D προέρχεται από πρωτογενείς επιδερμικές καλλιέργειες ποντικών που παρουσιάζουν αντίσταση στην επαγόμενη από ασβέστιο τελική διαφοροποίηση. Τα κύτταρα αυτά υποβλήθηκαν αρχικά σε επεξεργασία με τα καρκινογόνα N-μεθυλ-N'-νιτρο-N-νιτροζογουανιδίνη (MNNG) ή 7,12-διμεθυλοβενζ[α]ανθρακένιο (DMBA) και στη συνέχεια εκτέθηκαν σε 12-O-τετραδεκανοΐλο-φορβολ-13-οξικό άλας (TPA). Η αντίσταση στην τελική διαφοροποίηση αξιολογήθηκε με την αύξηση των επιπέδων ασβεστίου στο μέσο καλλιέργειας σε 1,2 mM, το οποίο επιτρέπει επιλεκτικά την ανάπτυξη των μετασχηματισμένων κυττάρων, ενώ τα φυσιολογικά κύτταρα τυπικά υφίστανται τελική διαφοροποίηση και θάνατο.

Η κυτταρική σειρά MCA-3D εμφανίζει επιθηλιακή μορφολογία και σχηματίζει καλά καθορισμένες αποικίες στην καλλιέργεια. Η ανάλυση της υπερδομής αποκαλύπτει ότι τα κύτταρα MCA-3D περιέχουν νημάτια κερατίνης και δεσμοσώματα, τα οποία είναι ενδεικτικά της επιθηλιακής τους προέλευσης και υποδηλώνουν τη διατήρηση κάποιου βαθμού φυσιολογικής διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων. Ωστόσο, η ακριβής αφθονία αυτών των δομών μπορεί να διαφέρει μεταξύ των υποπληθυσμών εντός της σειράς.

Τα κύτταρα MCA-3D έχουν δοκιμαστεί για καρκινικότητα με υποδόρια έγχυση σε συγγενή νεογνά Balb/c, με αποτελέσματα που δείχνουν ότι η γραμμή αυτή δεν είναι καρκινική, ακόμη και μετά από παρατεταμένη καλλιέργεια σε συνθήκες υψηλού ασβεστίου. Επιπλέον, τα κύτταρα MCA-3D δεν αναπτύσσονται σε μαλακό άγαρ, υποστηρίζοντας περαιτέρω τον μη κακοήθη φαινότυπό τους. Οι βιοχημικές αναλύσεις για τη δραστηριότητα της γ-γλουταμυλικής τρανσπεπτιδάσης (GGT) και τη δραστηριότητα της τρανσγλουταμινάσης έδειξαν ότι τα κύτταρα MCA-3D είναι αρνητικά για τη GGT και η δραστηριότητα της τρανσγλουταμινάσης δεν συσχετίζεται με το καρκινικό δυναμικό, ευθυγραμμιζόμενα με τη μη καρκινική ταξινόμησή τους.

Συνολικά, η κυτταρική σειρά MCA-3D χρησιμεύει ως μοντέλο για τη μελέτη των πρώιμων σταδίων της καρκινογένεσης και των παραγόντων που επηρεάζουν την εξέλιξη από τις προνεοπλασματικές αλλοιώσεις σε πλήρως κακοήθεις όγκους.

Organism Ποντίκι

Tissue Δέρμα

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

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Γυναίκα

Cell type Κερατινοκύτταρα

Growth properties Προσκολλημένο

Κύτταρα MCA-3D | 400437

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820600a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	TrypLE Express
Subculturing	Αφαιρέστε το μέσο και ξεπλύνετε τα προσκολλημένα κύτταρα χρησιμοποιώντας PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (3-5 ml PBS για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T25, 5-10 ml για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T75). Προσθέστε TrypLE Express (1-2ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T25, 2,5ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T75), το φύλλο κυττάρων πρέπει να καλυφθεί πλήρως. Επώαση στους 37 βαθμούς Κελσίου για 15-20 λεπτά. Ανασυσσωματώστε προσεκτικά τα κύτταρα με μέσο (10 ml), φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 300xg, ανασυσσωματώστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και διανείμετε σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.
Seeding density	0,5 έως 1×10^4 κύτταρα/cm ²
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm ² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα MCA-3D | 400437

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η αποθήκευση στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.