

Células MCA-3D | 400437**Información general****Description**

La línea celular MCA-3D procede de cultivos epidérmicos primarios de ratón que presentan resistencia a la diferenciación terminal inducida por calcio. Estas células se trataron inicialmente con los carcinógenos N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) o 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA), y posteriormente se expusieron a 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). La resistencia a la diferenciación terminal se evaluó elevando los niveles de calcio en el medio de cultivo a 1,2 mM, lo que permite selectivamente el crecimiento de las células transformadas, mientras que las células normales sufren típicamente diferenciación terminal y muerte.

La línea celular MCA-3D muestra una morfología epitelial y forma colonias bien definidas en cultivo. El análisis ultraestructural revela que las células MCA-3D contienen filamentos de queratina y desmosomas, que son indicativos de su origen epitelial y sugieren el mantenimiento de cierto grado de diferenciación queratinocítica normal. Sin embargo, la abundancia exacta de estas estructuras puede variar entre subpoblaciones dentro de la línea.

Las células MCA-3D han sido sometidas a pruebas de tumorigenicidad mediante inyección subcutánea en neonatos Balb/c singénicos, con resultados que indican que esta línea no es tumorigénica, incluso tras un cultivo prolongado en condiciones de alto contenido en calcio. Además, las células MCA-3D no crecen en agar blando, lo que respalda aún más su fenotipo no maligno. Los ensayos bioquímicos de actividad gamma glutamil transpeptidasa (GGT) y transglutaminasa han demostrado que las células MCA-3D son negativas para GGT y que su actividad transglutaminasa no se correlaciona con el potencial tumorigénico, lo que concuerda con su clasificación de no tumorigénicas.

En general, la línea celular MCA-3D sirve de modelo para estudiar las primeras fases de la carcinogénesis y los factores que influyen en la progresión de lesiones preneoplásicas a tumores completamente malignos.

Organism Ratón**Tissue** Piel**Synonyms** MCA3D, MCA3D, MCA/3D, MCA 3D**Características****Breed/Subspecies** BALB/c**Gender** Mujer**Cell type** Queratinocitos**Growth properties** Adherente**Datos reglamentarios**

Células MCA-3D | 400437**Citation** MCA-3D (número de catálogo de Cytion 400437)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797**Datos biomoleculares****Manejo de****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM Glutamina estable, w: 1,0 mM Piruvato sódico, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion número de artículo 820600a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Dissociation Reagent** TrypLE Express**Subculturing** Eliminar el medio y enjuagar las células adheridas con PBS sin calcio ni magnesio (3-5 ml de PBS para T25, 5-10ml para matraces de cultivo celular T75). Añadir TrypleExpress (1-2ml por T25, 2,5ml por matraz de cultivo celular T75), la lámina celular debe cubrirse completamente. Incubar a 37 grados Celsius durante 15-20 minutos. Resuspender cuidadosamente las células con medio (10 ml), centrifugar durante 5 min a 300xg, resuspender las células en medio fresco y dispensar en nuevos matraces que contengan medio fresco.**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:4 a 1:8**Seeding density** 0,5 a 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Post-Thaw Recovery** Después de descongelar, siembre las células a 5×10^4 células/cm² y deje que las células se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células MCA-3D | 400437

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

Amelogenin: x,x