

MCA-3D rakud | 400437

Üldine teave

Description

MCA-3D rakuliin on saadud hiire primaarsetest epidermiaalkultuuridest, mis on resistentsed kaltsiumist põhjustatud terminaalse diferentseerumise suhtes. Neid rakke töödeldi algselt kantserogeenidega N-metüül-N'-nitro-N-nitrosoguanidiin (MNNG) või 7,12-dimetüülbens[a]antratseen (DMBA) ja seejärel eksponeeriti 12-O-tetradekanooüülforbool-13-atsetaadiga (TPA). Terminaalse diferentseerumise resistentsust hinnati, tõstes kaltsiumitaseme kultuurikeskkonnas 1,2 mM-ni, mis võimaldab selektiivselt transformeeritud rakkude kasvu, samas kui normaalsed rakud tavaliselt läbivad terminaalse diferentseerumise ja surevad.

MCA-3D rakuliinil on epiteeli morfoloogia ja see moodustab kultuuris hästi määratletud kolooniad. Ultrastruktuuriline analüüs näitab, et MCA-3D rakud sisaldavad keratiinifilamente ja desmosome, mis viitavad nende epiteliaalse päritolule ja viitavad teatud määral normaalse keratinotsüütide diferentseerumise säilimisele. Nende struktuuride täpne arvukus võib siiski liinisiseselt subpopulatsiooniti erineda.

MCA-3D rakke on testitud kasvajaohthikkuse suhtes süngeensetele Balb/c vastsündinutele nahaaluse süstimise teel, kusjuures tulemused näitasid, et see liin ei ole kasvajaohthlik isegi pärast pikaajalist kasvatamist kõrge kaltsiumisisaldusega tingimustes. Lisaks sellele ei kasva MCA-3D rakud pehmel agaril, mis toetab veelgi nende mittemalignaalset fenotüüpi. Biokeemilised testid gammaglutamüültranspeptidaasi (GGT) aktiivsuse ja transglutaminaasi aktiivsuse määramiseks on näidanud, et MCA-3D rakud on GGT suhtes negatiivsed ja nende transglutaminaasi aktiivsus ei korreleeru tuumorigeense potentsiaaliga, mis vastab nende mittetuumorigeensele klassifikatsioonile.

Üldiselt on MCA-3D rakuliin mudeliks, mille abil saab uurida kantserogeneesi varajasi etappe ja tegureid, mis mõjutavad eelsoodumuse edenemist täielikult pahaloomulisteks kasvajateks.

Organism Hiir

Tissue Nahk

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

Omadused

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Naised

Cell type Keratinotsüüdid

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

MCA-3D rakud | 400437

Citation	MCA-3D (Cytioni katalooginumber 400437)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5797

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilne glutamiin, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820600a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	TrypLE Express
Subculturing	Eemaldage keskkond ja loputage kinni jäänud rakud, kasutades PBS-i ilma kaltsiumi ja magneesiumita (3-5 ml PBS-i T25, 5-10 ml T75 rakukultuurikolbide puhul). Lisage TrypLE Express (1-2 ml T25, 2,5 ml T75 rakukultuurikolbi kohta), rakukile peab olema täielikult kaetud. Inkubeerige 37 kraadi juures 15-20 minutit. Resuspenseerige rakud ettevaatlikult söötmega (10 ml), tsentrifuugige 5 minutit 300xg juures, resuspenseerige rakud värskes söötmes ja doseerige uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötme.
Seeding density	0,5 kuni 1×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MCA-3D rakud | 400437

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.