

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 NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820600a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

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 TrypleExpress (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/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² 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 rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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 söötmekekkond 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

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

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.