

## MCA-3D-solut | 400437

## Yleisiä tietoja

## Description

MCA-3D-solulinja on peräisin hiiren primaarisista epidermisviljelmistä, joilla on resistenssi kalsiumin aiheuttamaa terminaalista erilaistumista vastaan. Näitä soluja käsiteltiin aluksi karsinogeeneillä N-metyyli-N'-nitro-N-nitrosoguanidiini (MNNG) tai 7,12-dimetyylibents[a]antraseeni (DMBA), minkä jälkeen ne altistettiin 12-O-tetradekanyyliforboli-13-asetaatille (TPA). Terminaalisen erilaistumisen vastustuskykyä arvioitiin nostamalla kalsiumtasot kasvatusmediassa 1,2 mM:iin, mikä sallii valikoivasti transformoituneiden solujen kasvun, kun taas normaalit solut tyypillisesti erilaistuvat terminaalaisesti ja kuolevat.

MCA-3D-solulinjalla on epiteeliformologia ja se muodostaa hyvin määriteltyjä pesäkkeitä viljelyssä. Ultrastruktuurianalyysi paljastaa, että MCA-3D-solut sisältävät keratiinifilamentteja ja desmosomeja, jotka viittaavat niiden epiteeliperäisyyteen ja viittaavat siihen, että ne säilyttävät jonkinasteisen normaalin keratinosyyttien erilaistumisen. Näiden rakenteiden täsmällinen runsaus voi kuitenkin vaihdella linjan sisällä olevien osapopulaatioiden välillä.

MCA-3D-soluja on testattu kasvainten muodostumisen varalta injektoimalla ne ihon alle syngeneisiin Balb/c-alkuisiin vastasyntyneisiin, ja tulokset osoittavat, että tämä linja ei ole kasvainten muodostumista edistävä, vaikka sitä olisi viljelty pitkään korkeassa kalsiumpitoisessa tilassa. Lisäksi MCA-3D-solut eivät kasva pehmeässä agarissa, mikä tukee entisestään niiden ei-malignia fenotyyppiä. Biokemialliset määrytykset gammaglutamyylitranspeptidaasi- (GGT) ja transglutaminaasiaktiivisuudesta ovat osoittaneet, että MCA-3D-solut ovat negatiivisia GGT:n suhteen, eikä niiden transglutaminaasiaktiivisuus korreloi tuumorigeenisen potentiaalin kanssa, mikä vastaa niiden ei-tuumorigeenistä luokitusta.

Kaiken kaikkiaan MCA-3D-solulinja toimii mallina karsinogeenin varhaisvaiheiden ja niiden tekijöiden tutkimiseen, jotka vaikuttavat etenemiseen preneoplastisista vaurioista täysin pahanlaatuisiin kasvaimiin.

**Organism** Hiiri

**Tissue** Iho

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

## Ominaisuudet

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Gender** Nainen

**Cell type** Keratinosyytit

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

## MCA-3D-solut | 400437

<b>Citation</b>	MCA-3D (Cytionin luettelonumero 400437)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5797

## Biomolekyylitiedot

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820600a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Poista väliaine ja huuhtelee kiinni olevat solut PBS:llä, jossa ei ole kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml PBS:ää T25-soluviljelypulloissa, 5-10 ml T75-soluviljelypulloissa). Lisää TrypleExpressiä (1-2 ml T25-soluviljelypulloa kohti, 2,5 ml T75-soluviljelypulloa kohti), solulevyn on peitettävä kokonaan. Inkuboidaan 37 asteessa 15-20 minuuttia. Resuspendoi solut varovasti väliaineella (10 ml), sentrifugoi 5 minuuttia 300xg:n nopeudella, resuspendoi solut tuoreeseen väliaineeseen ja annostele uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
<b>Seeding density</b>	0,5–1 x 10 <sup>4</sup> solua/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kertaa viikossa
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10 <sup>4</sup> solua/cm <sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## MCA-3D-solut | 400437

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**MCA-3D-solut | 400437**

**Shipping  
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage  
Conditions**

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

**Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.