

Cellules MCA-3D | 400437

Informations générales

Description

La lignée cellulaire MCA-3D est dérivée de cultures primaires d'épiderme de souris qui présentent une résistance à la différenciation terminale induite par le calcium. Ces cellules ont été initialement traitées avec les carcinogènes N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) ou 7,12-diméthylbenz[a]anthracène (DMBA), puis exposées au 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA). La résistance à la différenciation terminale a été évaluée en augmentant les niveaux de calcium dans le milieu de culture à 1,2 mM, ce qui permet sélectivement la croissance des cellules transformées alors que les cellules normales subissent généralement une différenciation terminale et meurent.

La lignée cellulaire MCA-3D présente une morphologie épithéliale et forme des colonies bien définies en culture. L'analyse ultrastructurale révèle que les cellules MCA-3D contiennent des filaments de kératine et des desmosomes, ce qui indique leur origine épithéliale et suggère le maintien d'un certain degré de différenciation kératinocytaire normale. Cependant, l'abondance exacte de ces structures peut varier d'une sous-population à l'autre au sein de la lignée.

La tumorigénicité des cellules MCA-3D a été testée par injection sous-cutanée dans des nouveau-nés syngéniques Balb/c. Les résultats indiquent que cette lignée n'est pas tumorigène, même après une culture prolongée dans des conditions de calcium élevé. En outre, les cellules MCA-3D ne se développent pas dans la gélose molle, ce qui confirme leur phénotype non malin. Les analyses biochimiques de l'activité gamma glutamyl transpeptidase (GGT) et de l'activité transglutaminase ont montré que les cellules MCA-3D sont négatives pour la GGT, et que leur activité transglutaminase n'est pas en corrélation avec le potentiel tumorigène, ce qui confirme leur classification comme non tumorigènes.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire MCA-3D sert de modèle pour l'étude des premiers stades de la cancérogenèse et des facteurs qui influencent la progression des lésions préneoplasiques vers des tumeurs entièrement malignes.

Organism Souris

Tissue Peau

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

Caractéristiques

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Femme

Cell type Kératinocyte

Growth properties Adhérent

Cellules MCA-3D | 400437

Données réglementaires

Citation	MCA-3D (numéro de catalogue Cytion 400437)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5797

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	Ham's F12, w : 1.0 mM Glutamine stable, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium, w : 1.1 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820600a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer le milieu et rincer les cellules adhérentes avec du PBS sans calcium ni magnésium (3-5 ml de PBS pour T25, 5-10 ml pour les flacons de culture cellulaire T75). Ajouter TrypleExpress (1-2ml par T25, 2.5ml par flacon de culture cellulaire T75), la feuille de cellules doit être complètement recouverte. Incuber à 37 degrés Celsius pendant 15-20 minutes. Remettre soigneusement les cellules en suspension avec du milieu (10 ml), centrifuger pendant 5 minutes à 300xg, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les répartir dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:4 à 1:8 est recommandé
Seeding density	0,5 à 1 x 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5 x 10 ⁴ cellules/cm ² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Cellules MCA-3D | 400437

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Cellules MCA-3D | 400437

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,x