

## MCA-3D sejtek | 400437

## Általános információk

## Description

Az MCA-3D sejt vonal elsődleges egér epidermális kultúrákból származik, amelyek rezisztenciát mutatnak a kalcium által indukált terminális differenciálódással szemben. Ezeket a sejteket kezdetben N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG) vagy 7,12-dimetilbenz[a]antracén (DMBA) karcinogénnel kezelték, majd 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetát (TPA) expozíciónak tették ki. A terminális differenciálódással szembeni ellenállást a táptalaj kalciumszintjének 1,2 mM-ra történő emelésével vizsgáltuk, ami szelektíven lehetővé teszi a transzformált sejtek növekedését, míg a normál sejtek jellemzően terminális differenciálódáson és elhaláson mennek keresztül.

Az MCA-3D sejt vonal epiteliális morfológiát mutat, és jól definiált kolóniákat képez a kultúrában. Az ultrastrukturális elemzés azt mutatja, hogy az MCA-3D sejtek keratin filamentumokat és deszmoszómaikat tartalmaznak, amelyek epitheliális eredetükre utalnak, és a normál keratinocita differenciáció bizonyos fokú fenntartására utalnak. E struktúrák pontos mennyisége azonban a vonalon belüli szubpopulációk között változhat.

Az MCA-3D sejteket tumorigenitásra vizsgálták szingénikus Balb/c újszülöttek szubkután injekciójával, és az eredmények azt mutatták, hogy ez a vonal nem tumorigénikus, még magas kalciumtartalmú körülmények között történő hosszan tartó tenyésztés után sem. Ezenkívül az MCA-3D sejtek nem növekednek lágy agarban, ami tovább erősíti nem malignus fenotípusukat. A gamma-glutamil-transzpeptidáz (GGT) és transzglutamináz aktivitás biokémiai vizsgálata azt mutatta, hogy az MCA-3D sejtek negatívak a GGT-re, és transzglutamináz aktivitásuk nem korrelál a tumorigén potenciállal, ami összhangban van a nem tumorigén besorolásukkal.

Összességében az MCA-3D sejt vonal modellként szolgál a karcinogenezis korai szakaszainak és a preneoplasztikus elváltozásoktól a teljesen rosszindulatú daganatokig tartó progressziót befolyásoló tényezők tanulmányozására.

**Organism** Egér

**Tissue** Bőr

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

## Jellemzők

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Gender** Női

**Cell type** Keratinocita

**Growth properties** Adherent

## MCA-3D sejtek | 400437

## Szabályozási adatok

<b>Citation</b>	MCA-3D (Cytion katalógusszám: 400437)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5797

## Biomolekuláris adatok

## A kezelése

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion cikkszám 820600a)
<b>Supplements</b>	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Távolítsa el a tápfolyadékot, és öblítse le a megtapadt sejteket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 sejttenyésztő lombikok esetében). Adjunk hozzá TrypleExpress-t (1-2ml T25-ös, 2,5ml T75-ös sejttenyésztő lombikban), a sejtlapot teljesen be kell fednie. Inkubáljuk 37 Celsius fokon 15-20 percig. Óvatosan reszuszpendálja a sejteket médiummal (10 ml), centrifugálja 5 percig 300xg-nél, reszuszpendálja a sejteket friss médiumban, és adagolja új lombikokba, amelyek friss médiumot tartalmaznak.
<b>Seeding density</b>	0,5–1 x 10 <sup>4</sup> sejt/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	hetente 2-3 alkalommal
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10 <sup>4</sup> sejt/cm <sup>2</sup> sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
<b>Freeze medium</b>	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

## MCA-3D sejtek | 400437

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

### Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## MCA-3D sejtek | 400437

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150\text{ °C}$  és  $-196\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ °C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.