

**Cellule MCA-3D | 400437****Informazioni generali****Description**

La linea cellulare MCA-3D deriva da colture epidermiche primarie di topo che mostrano resistenza alla differenziazione terminale indotta dal calcio. Queste cellule sono state inizialmente trattate con gli agenti cancerogeni N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) o 7,12-dimetilbenz[a]antracene (DMBA) e successivamente esposte al 12-O-tetradecanoilforbolo-13-acetato (TPA). La resistenza alla differenziazione terminale è stata valutata elevando i livelli di calcio nel terreno di coltura a 1,2 mM, che consente selettivamente la crescita delle cellule trasformate, mentre le cellule normali vanno tipicamente incontro a differenziazione terminale e morte.

La linea cellulare MCA-3D mostra una morfologia epiteliale e forma colonie ben definite in coltura. L'analisi ultrastrutturale rivela che le cellule MCA-3D contengono filamenti di cheratina e desmosomi, che sono indicativi della loro origine epiteliale e suggeriscono il mantenimento di un certo grado di differenziazione normale dei cheratinociti. Tuttavia, l'esatta abbondanza di queste strutture può variare tra le sottopopolazioni della linea.

Le cellule MCA-3D sono state sottoposte a test di tumorigenicità mediante iniezione sottocutanea in neonati Balb/c singenici, con risultati che indicano che questa linea non è tumorigenica, anche dopo una coltura prolungata in condizioni di calcio elevato. Inoltre, le cellule MCA-3D non crescono in soft agar, a ulteriore conferma del loro fenotipo non maligno. I test biochimici per l'attività della gamma glutamil transpeptidasi (GGT) e della transglutaminasi hanno dimostrato che le cellule MCA-3D sono negative per la GGT e la loro attività di transglutaminasi non è correlata al potenziale tumorigenico, allineandosi con la loro classificazione non tumorigenica.

Nel complesso, la linea cellulare MCA-3D serve come modello per studiare le prime fasi della carcinogenesi e i fattori che influenzano la progressione da lesioni preneoplastiche a tumori completamente maligni.

**Organism** Mouse**Tissue** La pelle**Synonyms** MCA3D, MCA3D, MCA/3D, MCA 3D**Caratteristiche****Breed/Subspecies** BALB/c**Gender** Donna**Cell type** Cheratinocita**Growth properties** Aderente**Dati normativi**

**Cellule MCA-3D | 400437****Citation** MCA-3D (numero di catalogo Cytion 400437)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5797**Dati biomolecolari****Manipolazione****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM di glutammina stabile, w: 1,0 mM di piruvato di sodio, w: 1,1 g/L di NaHCO<sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820600a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il terreno e sciacquare le cellule aderenti con PBS senza calcio e magnesio (3-5 ml di PBS per T25, 5-10ml per le fiasche di coltura T75). Aggiungere TrypleExpress (1-2ml per T25, 2,5ml per T75), coprendo completamente il foglio cellulare. Incubare a 37 gradi Celsius per 15-20 minuti. Risospendere accuratamente le cellule con terreno di coltura (10 ml), centrifugare per 5 minuti a 300xg, risospendere le cellule in terreno fresco e dispensare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:8**Seeding density** Da 0,5 a  $1 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a  $5 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup> e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule MCA-3D | 400437

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule MCA-3D | 400437

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Profilo STR

**Amelogenin:** x,x