

MCA-3D ląstelės | 400437

Bendra informacija

Description

MCA-3D ląstelių linija gaunama iš pirminių pelių epidermio kultūrų, kurios pasižymi atsparumu kalcio sukeltai terminalinei diferenciacijai. Iš pradžių šios ląstelės buvo apdorotos kancerogenais N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidinu (MNNG) arba 7,12-dimetilbenz[a]antracenu (DMBA), o vėliau veikiamos 12-O-tetradekanoilforbol-13-acetatu (TPA). Atsparumas terminalinei diferenciacijai buvo įvertintas kultūros terpėje padidinus kalcio kiekį iki 1,2 mM, kuris selektyviai leidžia augti transformuotoms ląstelėms, o normalios ląstelės paprastai patiria terminalinę diferenciaciją ir žūsta.

MCA-3D ląstelių linija pasižymi epitelio morfologija ir kultūroje sudaro gerai apibrėžtas kolonijas. Ultrastruktūrinė analizė rodo, kad MCA-3D ląstelėse yra keratino gijų ir desmosomų, o tai rodo jų epitelinę kilmę ir leidžia manyti, kad jos išlaiko tam tikrą normalios keratinocitų diferenciacijos laipsnį. Tačiau tikslus šių struktūrų gausumas gali skirtis įvairiose linijos subpopuliacijose.

MCA-3D ląstelės buvo iširtos dėl navikiškumo poodine injekcija į sinogeninius Balb/c naujagimius, o rezultatai parodė, kad ši linija nėra navikiška, net ir po ilgo auginimo didelio kalcio kiekio sąlygomis. Be to, MCA-3D ląstelės neauga minkštame agare, o tai dar labiau patvirtina jų nepiktybinį fenotipą. Biocheminiai gama glutamiltranspeptidazės (GGT) ir transglutaminazės aktyvumo tyrimai parodė, kad MCA-3D ląstelės neigiamai veikia GGT, o jų transglutaminazės aktyvumas nesusijęs su navikiniu potencialu, o tai atitinka jų netumorigeniškumo klasifikaciją.

Apskritai MCA-3D ląstelių linija yra ankstyvųjų kancerogenezės stadijų ir veiksnių, turinčių įtakos perėjimui nuo preneoplastinių pakitimų iki visiškai piktybinių navikų, tyrimo modelis.

Organism Pelė

Tissue Odos

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

Charakteristikos

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Moteris

Cell type Keratinocitai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation MCA-3D (Cytion katalogo numeris 400437)

MCA-3D ląstelės | 400437

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabilus glutaminas, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820600a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** „TrypLE Express“**Subculturing** Pašalinkite terpę ir nuplaukite prilipusias ląsteles, naudodami PBS be kalcio ir magnio (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 ląstelių kultūrų kolbose). Įpilkite "TrypleExpress" (1-2 ml į T25, 2,5 ml į T75 ląstelių kultūrų kolbą), ląstelės turi būti visiškai padengtos. Inkubuokite 37 laipsnių Celsijaus temperatūroje 15-20 minučių. Atsargiai permaiškite ląsteles su terpe (10 ml), 5 min. centrifuguokite 300xg greičiu, permaiškite ląsteles šviežioje terpėje ir išpilstykite į naujas kolbas su šviežia terpe.**Seeding density** 0,5–1 x 10⁴ ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10⁴ ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MCA-3D ląstelės | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MCA-3D ląstelės | 400437

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.