

## MCA-3D šūnas | 400437

## Vispārīga informācija

## Description

MCA-3D šūnu līnija ir iegūta no primārajām peļu epidermas kultūrām, kas ir izturīgas pret kalcija izraisītu terminālo diferenciāciju. Šīs šūnas sākotnēji tika apstrādātas ar kancerogēniem N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidīnu (MNNG) vai 7,12-dimetilbenz[a]antracēnu (DMBA) un pēc tam pakļautas 12-O-tetradekanoilforbol-13-acetāta (TPA) iedarbībai. Izturība pret terminālo diferenciāciju tika novērtēta, paaugstinot kalcija līmeni barotnē līdz 1,2 mM, kas selektīvi ļauj augt transformētām šūnām, kamēr normālas šūnas parasti iziet terminālo diferenciāciju un iet bojā.

MCA-3D šūnu līnijai ir epitēlija morfolģija, un kultūrā tā veido labi definētas kolonijas. Ultrastrukturālā analīze atklāj, ka MCA-3D šūnās ir keratīna pavedieni un desmosomas, kas norāda uz to epitēlija izcelsmi un liecina par normālas keratinocītu diferenciācijas saglabāšanu. Tomēr precīzs šo struktūru daudzums dažādās līnijas subpopulācijās var atšķirties.

MCA-3D šūnas ir pārbaudītas attiecībā uz tumorogēniskumu, zemādas injekcijas veidā injicējot singēniskiem Balb/c jaundzimušajiem, un rezultāti liecina, ka šī līnija nav tumorogēniska pat pēc ilgstošas kultivēšanas augsta kalcija satura apstākļos. Turklāt MCA-3D šūnas neaug mīkstā agārā, kas vēl vairāk apstiprina to nemaligno fenomenu. Bioķīmiskie gamma glutamiltranspeptidāzes (GGT) aktivitātes un transglutamināzes aktivitātes testi parādīja, ka MCA-3D šūnu GGT ir negatīva, un to transglutamināzes aktivitāte nav saistīta ar audzēja potenciālu, kas atbilst to netumorizējošai klasifikācijai.

Kopumā MCA-3D šūnu līnija kalpo kā modelis kancerogēnēzes agrīno stadiju un faktoru, kas ietekmē pāreju no preneoplastiskiem bojājumiem uz pilnībā ļaundabīgiem audzējiem, izpētei.

**Organism** Pele

**Tissue** Āda

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

## Raksturojums

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Gender** Sievietes

**Cell type** Keratinocīti

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** MCA-3D (Cytion kataloga numurs 400437)

## MCA-3D šūnas | 400437

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5797

## Biomolekulārie dati

## Darbs ar

<b>Culture Medium</b>	Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820600a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	TrypLE Express
-----------------------------	----------------

<b>Subculturing</b>	Noņemiet barotni un izskalojiet pielipušās šūnas, izmantojot PBS bez kalcija un magnija (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 šūnu kultūru kolbām). Pievienojiet TrypleExpress (1-2 ml uz T25, 2,5 ml uz T75 šūnu kultūru kolbu), šūnu sloksnei jābūt pilnībā pārklātai. Inkubēt 15 līdz 20 minūtes 37 grādu temperatūrā pēc Celsija. Uzmanīgi resuspendēt šūnas ar barotni (10 ml), centrifugēt 5 minūtes ar 300xg, resuspendēt šūnas svaigā barotnē un iepildīt jaunās kolbās, kurās ir svaiga barotne.
---------------------	--

<b>Seeding density</b>	0,5 līdz $1 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup>
------------------------	--

<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu $5 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
---------------------------	--

<b>Freeze medium</b>	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

**MCA-3D šūnas | 400437****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**MCA-3D šūnas | 400437**

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.