

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 diferenciaciju. 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 diferenciaciju tika novērtēta, paaugstinot kalcija līmeni barotnē līdz 1,2 mM, kas selektīvi ļauj augt transformētām šūnām, kamēr normālas šūnas parasti iziet terminālo diferenciaciju 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 diferenciacijas 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

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5797

Biomolekulārie dati

Darbs ar

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

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	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.
---------------------	--

Seeding density	0,5 līdz 1×10^4 šūnas/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
---------------------------	--

Freeze medium	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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

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.