

MCA-3D Cellen | 400437

Algemene informatie

Description

De MCA-3D cellijn is afgeleid van primaire muizenepidermale culturen die resistentie vertonen tegen calciumgeïnduceerde terminale differentiatie. Deze cellen werden aanvankelijk behandeld met de kankerverwekkende stoffen N-methyl-N'-nitro-Nitrosoguanidine (MNNG) of 7,12-dimethylbenz[a]anthraceen (DMBA) en vervolgens blootgesteld aan 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA). De resistentie tegen terminale differentiatie werd beoordeeld door het calciumniveau in het kweekmedium te verhogen tot 1,2 mM, wat selectief de groei van getransformeerde cellen mogelijk maakt terwijl normale cellen gewoonlijk terminale differentiatie en dood ondergaan.

De MCA-3D cellijn vertoont een epitheliale morfologie en vormt goed gedefinieerde kolonies in cultuur. Ultrastructurele analyse laat zien dat MCA-3D cellen keratinefilamenten en desmosomen bevatten, die indicatief zijn voor hun epitheliale oorsprong en wijzen op het behoud van een zekere mate van normale keratinocytdifferentiatie. De exacte overvloed van deze structuren kan echter variëren tussen subpopulaties binnen de lijn.

MCA-3D cellen zijn getest op tumorigeniciteit door subcutane injectie in syngene Balb/c neonaten, met resultaten die aangeven dat deze lijn niet tumorigenic is, zelfs na langdurige kweek in hoge calciumcondities. Bovendien groeien de MCA-3D cellen niet in zachte agar, wat hun niet-kwaadaardige fenotype verder ondersteunt. Biochemische testen voor gamma glutamyl transpeptidase (GGT) activiteit en transglutaminase activiteit hebben aangetoond dat MCA-3D cellen negatief zijn voor GGT en dat hun transglutaminase activiteit niet correleert met tumorigene potentie, wat overeenkomt met hun niet-tumorigene classificatie.

In het algemeen dient de MCA-3D cellijn als model voor het bestuderen van de vroege stadia van carcinogenese en de factoren die de progressie van preneoplastische letsels naar volledig kwaadaardige tumoren beïnvloeden.

Organism Muis

Tissue Huid

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

Kenmerken

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Vrouw

Cell type Keratinocyt

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

MCA-3D Cellen | 400437

Citation	MCA-3D (Cytion catalogusnummer 400437)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5797
-----------------------------	-----------

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiele Glutamine, w: 1,0 mM natriumpyruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Verwijder medium en spoel de adherente cellen met PBS zonder calcium en magnesium (3-5 ml PBS voor T25, 5-10ml voor T75 celkweekflessen). Voeg TrypleExpress toe (1-2ml per T25, 2,5ml per T75 celkweekfles), het celblad moet volledig bedekt zijn. Incubeer 15-20 minuten bij 37 graden Celsius. Resuspendeer de cellen voorzichtig met medium (10 ml), centrifugeer 5 minuten bij 300xg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven met vers medium.
---------------------	--

Split ratio	Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen
--------------------	---

Seeding density	0,5 tot 1×10^4 cellen/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm ² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.
---------------------------	---

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
----------------------	--

MCA-3D Cellen | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

MCA-3D Cellen | 400437

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x