

## MCA-3D-celler | 400437

## Generell informasjon

## Description

MCA-3D-cellelinjen er avledet fra primære epidermalkulturer fra mus som utviser resistens mot kalsiumindusert terminal differensiering. Disse cellene ble først behandlet med de kreftfremkallende stoffene N-metyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) eller 7,12-dimetylbenz[a]antracen (DMBA), og deretter eksponert for 12-O-tetradekanoylforbol-13-acetat (TPA). Motstanden mot terminal differensiering ble vurdert ved å øke kalsiumnivået i dyrkingsmediet til 1,2 mM, noe som selektivt tillater vekst av transformerte celler, mens normale celler vanligvis gjennomgår terminal differensiering og dør.

MCA-3D-cellelinjen har en epitelial morfologi og danner veldefinerte kolonier i kultur. Ultrastrukturelle analyser viser at MCA-3D-celler inneholder keratinfilamenter og desmosomer, noe som tyder på at de har epitelial opprinnelse og opprettholder en viss grad av normal keratinocytt-differensiering. Den nøyaktige forekomsten av disse strukturene kan imidlertid variere mellom subpopulasjoner innenfor linjen.

MCA-3D-celler har blitt testet for tumorigenisitet ved subkutan injeksjon i syngene Balb/c nyfødte, og resultatene tyder på at denne cellelinjen ikke er tumorigenisk, selv etter langvarig dyrking under høye kalsiumbetingelser. I tillegg vokser ikke MCA-3D-cellene i myk agar, noe som ytterligere underbygger deres ikke-maligne fenotype. Biokjemiske analyser av gammaglutamyltranspeptidase (GGT)-aktivitet og transglutaminaseaktivitet har vist at MCA-3D-cellene er negative for GGT, og at transglutaminaseaktiviteten ikke korrelerer med tumorigent potensial, noe som samsvarer med deres ikke-tumorigene klassifisering.

MCA-3D-cellelinjen fungerer som en modell for å studere de tidlige stadiene av karsinogenese og de faktorene som påvirker utviklingen fra preneoplastiske lesjoner til fullt maligne svulster.

**Organism** Mus

**Tissue** Hud

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

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Gender** Kvinne

**Cell type** Keratinocyt

**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

**Citation** MCA-3D (Cytion-katalognummer 400437)

## MCA-3D-celler | 400437

Biosafety level 1

NCBI\_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL\_5797

## Biomolekylære data

## Håndtering

**Culture Medium** Ham's F12, m: 1,0 mM stabil glutamin, m: 1,0 mM natriumpyruvat, m: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820600a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern mediet og skyll de adherente cellene med PBS uten kalsium og magnesium (3-5 ml PBS for T25, 5-10 ml for T75-cellekulturflasker). Tilsett TrypleExpress (1-2 ml per T25, 2,5 ml per T75-cellekulturkolbe), cellearket må være helt dekket. Inkuber ved 37 grader Celsius i 15-20 minutter. Resuspender cellene forsiktig med medium (10 ml), sentrifuger i 5 minutter ved 300xg, resuspender cellene i nytt medium og fordel dem i nye kolber som inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales**Seeding density** 0,5 til  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## MCA-3D-celler | 400437

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**MCA-3D-celler | 400437**

**Storage  
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**

**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

**STR-profil**

**Amelogenin:** x,x