

## Komórki MCA-3D | 400437

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa MCA-3D pochodzi z pierwotnych hodowli naskórka myszy, które wykazują oporność na końcowe różnicowanie indukowane wapniem. Komórki te były początkowo traktowane czynnikami rakotwórczymi N-metylo-N'-nitro-N-nitrozoguanidyną (MNNG) lub 7,12-dimetylobenz[a]antracenenem (DMBA), a następnie poddawane działaniu 12-O-tetradekanoiloforbol-13-octanu (TPA). Odporność na końcowe różnicowanie oceniano poprzez podniesienie poziomu wapnia w pożywce hodowlanej do 1,2 mM, co selektywnie pozwala na wzrost transformowanych komórek, podczas gdy normalne komórki zwykle ulegają końcowemu różnicowaniu i śmierci.

Linia komórkowa MCA-3D wykazuje morfologię nabłonkową i tworzy dobrze zdefiniowane kolonie w hodowli. Analiza ultrastrukturalna ujawnia, że komórki MCA-3D zawierają włókna keratynowe i desmosomy, które wskazują na ich nabłonkowe pochodzenie i sugerują utrzymanie pewnego stopnia normalnego różnicowania keratynocytów. Jednak dokładna obfitość tych struktur może się różnić w zależności od subpopulacji w obrębie linii.

Komórki MCA-3D zostały przetestowane pod kątem nowotworowości poprzez podskórne wstrzyknięcie syngenicznym noworodkom Balb/c, z wynikami wskazującymi, że linia ta jest nienowotworowa, nawet po długotrwałej hodowli w warunkach wysokiego stężenia wapnia. Dodatkowo, komórki MCA-3D nie rosną w miękkim agarze, co dodatkowo potwierdza ich nienowotworowy fenotyp. Testy biochemiczne na aktywność transpeptydazy gamma glutamylowej (GGT) i aktywność transglutaminazy wykazały, że komórki MCA-3D są ujemne pod względem GGT, a ich aktywność transglutaminazy nie koreluje z potencjałem nowotworowym, co jest zgodne z ich klasyfikacją nienowotworową.

Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa MCA-3D służy jako model do badania wczesnych etapów kancerogenezy i czynników, które wpływają na progresję od zmian przednowotworowych do pełni złośliwych guzów.

**Organism** Mysz

**Tissue** Skóra

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

## Charakterystyka

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Gender** Kobieta

**Cell type** Keratynocyt

**Growth properties** Adherent

**Komórki MCA-3D | 400437****Dane regulacyjne**

<b>Citation</b>	MCA-3D (numer katalogowy Cytion 400437)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5797

**Dane biomolekularne****Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogromianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820600a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Usunąć pożywkę i przepłukać przylegające komórki używając PBS bez wapnia i magnezu (3-5 ml PBS na kolbę T25, 5-10 ml na kolbę T75). Dodaj TrypleExpress (1-2 ml na kolbę T25, 2,5 ml na kolbę T75), arkusz komórek musi być całkowicie pokryty. Inkubować w temperaturze 37 stopni Celsjusza przez 15-20 minut. Ostrożnie ponownie zawiesić komórki w pożywce (10 ml), wirować przez 5 minut przy 300xg, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
<b>Split ratio</b>	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8
<b>Seeding density</b>	0,5 do 1 x 10 <sup>4</sup> komórek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrożeniu umieścić komórki na płytce w ilości 5 x 10 <sup>4</sup> komórek/cm <sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki MCA-3D | 400437

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki MCA-3D | 400437

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x