

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**

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

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogromianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820600a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	TrypLE Express
Subculturing	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 TrypLE Express (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.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8
Seeding density	0,5 do 1 x 10 ⁴ komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieścić komórki na płytce w ilości 5 x 10 ⁴ komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
Freeze medium	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°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°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 próbówki 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°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

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°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki 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