

Celule MCA-3D | 400437

Informații generale

Description

Linia celulară MCA-3D este derivată din culturi epidermice primare de șoarece care prezintă rezistență la diferențierea terminală indusă de calciu. Aceste celule au fost tratate inițial cu agenții cancerigeni N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidină (MNNG) sau 7,12-dimetilbenz[a]antracen (DMBA) și expuse ulterior la 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetat (TPA). Rezistența la diferențierea terminală a fost evaluată prin creșterea nivelului de calciu în mediul de cultură la 1,2 mM, care permite în mod selectiv creșterea celulelor transformate, în timp ce celulele normale suferă în mod obișnuit diferențierea terminală și moartea.

Linia celulară MCA-3D prezintă o morfologie epitelială și formează colonii bine definite în cultură. Analiza ultrastructurală arată că celulele MCA-3D conțin filamente de keratină și desmosomi, care indică originea lor epitelială și sugerează menținerea unui anumit grad de diferențiere normală a keratinocitelor. Cu toate acestea, abundența exactă a acestor structuri poate varia între subpopulațiile din cadrul liniei.

Celulele MCA-3D au fost testate din punct de vedere al tumorigenității prin injectare subcutanată în nou-născuți Balb/c singeneici, rezultatele indicând că această linie nu este tumorigenă, chiar și după o cultură prelungită în condiții de calciu ridicat. În plus, celulele MCA-3D nu cresc în agar moale, ceea ce susține și mai mult fenotipul lor non-malign. Testele biochimice pentru activitatea gamma glutamil transpeptidazei (GGT) și activitatea transglutaminazei au arătat că celulele MCA-3D sunt negative pentru GGT, iar activitatea lor transglutaminazică nu se corelează cu potențialul tumorigen, ceea ce corespunde clasificării lor non-tumorigene.

În general, linia celulară MCA-3D servește drept model pentru studierea stadiilor incipiente ale carcinogenezei și a factorilor care influențează evoluția de la leziuni preneoplastice la tumori complet maligne.

Organism Șoarece

Tissue Piele

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

Caracteristici

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Femei

Cell type Keratinocit

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation MCA-3D (număr de catalog Cytion 400437)

Celule MCA-3D | 400437

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM glutamină stabilă, w: 1,0 mM piruvat de sodiu, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820600a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** TrypLE Express**Subculturing** Îndepărtați mediul și clătiți celulele aderente folosind PBS fără calciu și magneziu (3-5 ml PBS pentru T25, 5-10 ml pentru flacoane de cultură celulară T75). Adăugați TrypleExpress (1-2 ml pentru T25, 2,5 ml pentru balonul de cultură celulară T75), foaia celulară trebuie să fie acoperită complet. Incubați la 37 de grade Celsius timp de 15-20 de minute. Resuspendați cu grijă celulele cu mediu (10 ml), centrifugați timp de 5 minute la 300xg, resuspendați celulele în mediu proaspăt și distribuiți în flacoane noi care conțin mediu proaspăt.**Seeding density** 0,5 până la 1×10^4 celule/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Post-Thaw Recovery** După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule MCA-3D | 400437

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule MCA-3D | 400437

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.