

MCA-3D-celler | 400437

Allmän information

Description

MCA-3D-cellinjen härrör från primära epidermala kulturer från mus som uppvisar resistens mot kalciuminducerad terminal differentiering. Dessa celler behandlades initialt med de carcinogena ämnena N-metyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) eller 7,12-dimetylbenz[a]antracen (DMBA) och exponerades därefter för 12-O-tetradekanoylforbol-13-acetat (TPA). Motståndet mot terminal differentiering utvärderades genom att höja kalciumnivåerna i odlingsmediet till 1,2 mM, vilket selektivt möjliggör tillväxt av transformerade celler medan normala celler vanligtvis genomgår terminal differentiering och dör.

Cellinjen MCA-3D uppvisar en epitelial morfologi och bildar väldefinierade kolonier i odling. Ultrastrukturell analys visar att MCA-3D-cellerna innehåller keratinfilament och desmosomer, vilket är ett tecken på deras epiteliala ursprung och tyder på att en viss grad av normal keratinocytdifferentiering bibehålls. Den exakta förekomsten av dessa strukturer kan dock variera mellan subpopulationer inom linjen.

MCA-3D-celler har testats för tumörframkallande förmåga genom subkutan injektion i syngena Balb/c-nonater, och resultaten tyder på att denna cellinje inte är tumörframkallande, inte ens efter långvarig odling under förhållanden med hög kalciumhalt. Dessutom växer inte MCA-3D-cellerna i mjuk agar, vilket ytterligare stöder deras icke-maligna fenotyp. Biokemiska analyser av gammaglutamyltranspeptidas (GGT)-aktivitet och transglutaminasaktivitet har visat att MCA-3D-cellerna är negativa för GGT, och att deras transglutaminasaktivitet inte korrelerar med tumörframkallande potential, vilket överensstämmer med deras klassificering som icke-tumörframkallande.

Sammantaget fungerar MCA-3D-cellinjen som en modell för att studera de tidiga stadierna av carcinogenes och de faktorer som påverkar utvecklingen från preneoplastiska lesioner till fullt maligna tumörer.

Organism Mus

Tissue Hud

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

Egenskaper

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Kvinna

Cell type Keratinocyt

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

MCA-3D-celler | 400437

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

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilt glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort medium och skölj de vidhäftande cellerna med PBS utan kalcium och magnesium (3-5 ml PBS för T25, 5-10 ml för T75 cellodlingsflaskor). Tillsätt TrypleExpress (1-2 ml per T25, 2,5 ml per T75 cellodlingsflaska), cellarket måste täckas helt. Inkubera vid 37 grader Celsius i 15-20 minuter. Resuspendera cellerna försiktigt med medium (10 ml), centrifugera i 5 min vid 300xg, resuspendera cellerna i färskt medium och fördela i nya kolvar som innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:4 till 1:8 rekommenderas
Seeding density	0,5 till 1×10^4 cell ^{er} /cm ²
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
Post-Thaw Recovery	Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm ² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

MCA-3D-celler | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

MCA-3D-celler | 400437

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

**Storage
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,x