

Bunky MCA-3D | 400437**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia MCA-3D je odvodená z primárnych epidermálnych kultúr myší, ktoré vykazujú odolnosť voči terminálnej diferenciacii indukovanej vápnikom. Tieto bunky boli najprv ošetrované karcinogénmi N-metyl-N'-nitro-N-nitrozoguanidínom (MNNG) alebo 7,12-dimetylbenz[a]antracénom (DMBA) a následne vystavené pôsobeniu 12-O-tetradekanoylforbol-13-acetátu (TPA). Odolnosť voči terminálnej diferenciacii sa hodnotila zvýšením hladiny vápnika v kultivačnom médiu na 1,2 mM, čo selektívne umožňuje rast transformovaných buniek, zatiaľ čo normálne bunky zvyčajne podliehajú terminálnej diferenciacii a smrti.

Bunková línia MCA-3D vykazuje epitelovú morfológiu a v kultúre vytvára dobre definované kolónie. Ultraštruktúrálna analýza ukazuje, že bunky MCA-3D obsahujú keratínové vlákna a desmozómy, ktoré svedčia o ich epiteliálnom pôvode a naznačujú zachovanie určitého stupňa normálnej keratinocytovej diferenciacie. Presný výskyt týchto štruktúr sa však môže líšiť medzi jednotlivými subpopuláciami v rámci línie.

Bunky MCA-3D boli testované na nádorovú aktivitu subkutánnou injekciou syngénym novorodencom Balb/c, pričom výsledky naznačujú, že táto línia nie je nádorovo aktívna ani po dlhodobej kultivácii v podmienkach s vysokým obsahom vápnika. Okrem toho bunky MCA-3D nerastú v mäkkom agare, čo ďalej podporuje ich nenádorový fenotyp. Biochemické testy na aktivitu gama glutamyl transpeptidázy (GGT) a transglutaminázovú aktivitu ukázali, že bunky MCA-3D sú negatívne na GGT a ich transglutaminázová aktivita nekoreluje s nádorovým potenciálom, čo zodpovedá ich nenádorovej klasifikácii.

Celkovo slúži bunková línia MCA-3D ako model na štúdium skorých štádií karcinogenézy a faktorov, ktoré ovplyvňujú prechod od preneoplastických lézií k plne malígnym nádorom.

Organism Myš**Tissue** Koža**Synonyms** MCA3D, MCA3D, MCA/3D, MCA 3D**Charakteristika****Breed/Subspecies** BALB/c**Gender** Ženy**Cell type** Keratinocyty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** MCA-3D (katalógové číslo Cytion 400437)

Bunky MCA-3D | 400437**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilný glutamín, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion číslo výrobku 820600a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte médium a opláchnite prichytené bunky pomocou PBS bez vápnika a horčíka (3-5 ml PBS pre banky T25, 5-10 ml pre banky T75). Pridajte TrypleExpress (1 - 2 ml na T25, 2,5 ml na banku s bunkovou kultúrou T75), bunkový list musí byť úplne pokrytý. Inkubujte pri teplote 37 °C počas 15 - 20 minút. Opatrne resuspendujte bunky s médiom (10 ml), odstreďte 5 minút pri 300xg, resuspendujte bunky v čerstvom médiu a rozmiestnite do nových fliaš, ktoré obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 0,5 až 1×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Overtvorte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky MCA-3D | 400437

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.