

Celice MCA-3D | 400437

Splošne informacije

Description

Celična linija MCA-3D izhaja iz primarnih epidermalnih kultur miši, ki so odporne na terminalno diferenciacijo, povzročeno s kalcijem. Te celice so bile najprej obdelane s kancerogenima N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidinom (MNNG) ali 7,12-dimetilbenz[a]antracenom (DMBA) in nato izpostavljene 12-O-tetradekanoilforbol-13-acetatu (TPA). Odpornost na končno diferenciacijo smo ocenili s povišanjem ravni kalcija v gojišču na 1,2 mM, kar selektivno omogoča rast transformiranih celic, medtem ko normalne celice običajno doživijo končno diferenciacijo in smrt.

Celična linija MCA-3D ima epiteljsko morfolgijo in v kulturi tvori dobro definirane kolonije. Ultrastrukturna analiza pokaže, da celice MCA-3D vsebujejo keratinske filamente in desmosome, ki kažejo na njihov epiteljski izvor in kažejo na ohranjanje določene stopnje normalne diferenciacije keratinocitov. Vendar se lahko točno število teh struktur razlikuje med subpopulacijami znotraj linije.

Celice MCA-3D so bile testirane na tumorogenost s podkožnim vbrzganjem v singenične novorojenčke Balb/c, pri čemer so rezultati pokazali, da ta linija ni tumorogena, tudi po dolgotrajnem gojenju v pogojih z visoko vsebnostjo kalcija. Poleg tega celice MCA-3D ne rastejo v mehkem agarju, kar dodatno potrjuje njihov nemaligni fenotip. Biokemični testi za aktivnost gama glutamil transpeptidaze (GGT) in aktivnost transglutaminaze so pokazali, da so celice MCA-3D negativne za GGT, njihova aktivnost transglutaminaze pa ni povezana s tumorskim potencialom, kar je v skladu z njihovo netumorigeno razvrstitvijo.

Na splošno je celična linija MCA-3D model za preučevanje zgodnjih faz kancerogeneze in dejavnikov, ki vplivajo na napredovanje od preneoplastičnih sprememb do popolnoma malignih tumorjev.

Organism Miška

Tissue Koža

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

Značilnosti

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Ženske

Cell type Keratinociti

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation MCA-3D (katalogska številka Cytion 400437)

Celice MCA-3D | 400437

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnega glutamina, w: 1,0 mM natrijevega piruvata, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820600a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite gojišče in izperite prilepljene celice z uporabo PBS brez kalcija in magnezija (3-5 ml PBS za bučke T25, 5-10 ml za bučke T75). Dodajte TrypleExpress (1-2 ml na bučko T25, 2,5 ml na bučko T75), celični list mora biti popolnoma prekrit. Inkubirajte pri 37 stopinjah Celzija 15-20 minut. Previdno ponovno suspendirajte celice z gojiščem (10 ml), centrifugirajte 5 minut pri 300xg, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in razpršite v nove bučke, ki vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 0,5 do 1×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MCA-3D | 400437

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.