

MCA-3D Hücreleri | 400437

Genel bilgi

Description

MCA-3D hücre hattı, kalsiyumla indüklenen terminal farklılaşmaya direnç gösteren birincil fare epidermal kültürlerinden türetilmiştir. Bu hücreler başlangıçta karsinojen N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) veya 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) ile muamele edilmiş ve ardından 12-O-tetradekanoilphorbol-13-asetata (TPA) maruz bırakılmıştır. Terminal farklılaşmaya karşı direnç, kültür ortamındaki kalsiyum seviyelerinin 1,2 mM'ye yükseltilmesiyle değerlendirilmiştir; bu, normal hücreler tipik olarak terminal farklılaşma ve ölüme maruz kalırken seçici olarak dönüştürülmüş hücrelerin büyümesine izin verir.

MCA-3D hücre hattı epitelyal bir morfoloji sergiler ve kültürde iyi tanımlanmış koloniler oluşturur. Ultrastrüktürel analiz, MCA-3D hücrelerinin epitelyal kökenlerinin göstergesi olan ve bir dereceye kadar normal keratinosit farklılaşmasının sürdürüldüğünü düşündüren keratin filamentleri ve desmozomlar içerdiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bu yapıların tam bolluğu hat içindeki alt popülasyonlar arasında değişebilir.

MCA-3D hücreleri sinjenik Balb/c yenidoğanlara subkutan enjeksiyon yoluyla tümörjeniklik açısından test edilmiş ve sonuçlar bu hattın yüksek kalsiyum koşullarında uzun süreli kültürden sonra bile tümörjenik olmadığını göstermiştir. Ayrıca, MCA-3D hücreleri yumuşak agarda büyümeyerek malign olmayan fenotiplerini daha da desteklemektedir. Gama glutamil transpeptidaz (GGT) aktivitesi ve transglutaminaz aktivitesi için yapılan biyokimyasal testler, MCA-3D hücrelerinin GGT için negatif olduğunu ve transglutaminaz aktivitesinin tümörjenik olmayan sınıflandırmalarıyla uyumlu olarak tümörjenik potansiyel ile ilişkili olmadığını göstermiştir.

Genel olarak, MCA-3D hücre hattı, karsinogenezin erken aşamalarını ve preneoplastik lezyonlardan tamamen malign tümörlere ilerlemeyi etkileyen faktörleri incelemek için bir model görevi görmektedir.

Organism Fare

Tissue Cilt

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

Özellikler

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Kadın

Cell type Keratinosit

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

MCA-3D Hücreleri | 400437**Citation** MCA-3D (Cytion katalog numarası 400437)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5797**Biyomoleküler Veriler****Elleçleme****Culture Medium** Ham's F12, w: 1.0 mM stabil Glutamin, w: 1.0 mM Sodyum piruvat, w: 1.1 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820600a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** TrypLE Express**Subculturing** Ortamı çıkarın ve yapışmış hücreleri kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS kullanarak durulayın (T25 için 3-5 ml PBS, T75 hücre kültürü şişeleri için 5-10 ml). TrypLE Express ekleyin (T25 başına 1-2 ml, T75 hücre kültürü şişesi başına 2,5 ml), hücre tabakası tamamen kaplanmalıdır. 37 santigrat derecede 15-20 dakika inkübe edin. Hücreleri besiyeriyle (10 ml) dikkatlice yeniden süspansen edin, 300xg'de 5 dakika santrifüjleyin, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansen edin ve taze besiyeri içeren yeni şişelere dağıtın.**Seeding density** 0,5 ila 1×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

MCA-3D Hücreleri | 400437**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

MCA-3D Hücreleri | 400437

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.