

Клітини MCA-3D | 400437

Загальна інформація

Description

Клітинну лінію MCA-3D отримано з первинних культур епідермісу миші, які демонструють стійкість до кальцій-індукованої термінальної диференціації. Ці клітини спочатку обробляли канцерогенами N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідіном (MNNG) або 7,12-диметилбенз[а]антраценом (DMBA), а потім піддавали впливу 12-О-тетрадеканоїлфорбол-13-ацетату (TPA). Стійкість до термінальної диференціації оцінювали шляхом підвищення рівня кальцію в культуральному середовищі до 1,2 мМ, що вибірково забезпечує ріст трансформованих клітин, тоді як нормальні клітини зазвичай зазнають термінальної диференціації та загибелі.

Клітинна лінія MCA-3D має епітеліальну морфологію і утворює чітко окреслені колонії в культурі. Ультраструктурний аналіз показує, що клітини MCA-3D містять кератинові філаменти і десмосоми, які вказують на їх епітеліальне походження і припускають збереження певного ступеня нормальної диференціації кератиноцитів. Однак, точна кількість цих структур може варіювати між субпопуляціями в межах лінії.

Клітини MCA-3D були протестовані на пухлиногенність шляхом підшкірної ін'єкції синтетичним новонародженим Balb/c. Результати показали, що ця лінія не є пухлиногенною, навіть після тривалого культивування в умовах високого вмісту кальцію. Крім того, клітини MCA-3D не ростуть у м'якому агарі, що додатково підтверджує їхній незлоякісний фенотип. Біохімічні аналізи на активність гамма-глутамілтранспептидази (GGT) і трансклутамінази показали, що клітини MCA-3D є негативними до GGT, а їхня трансклутаміназна активність не корелює з пухлинним потенціалом, що узгоджується з їхньою непухлинною класифікацією.

Загалом, клітинна лінія MCA-3D слугує моделлю для вивчення ранніх стадій канцерогенезу та факторів, що впливають на прогресію від переднеопластичних утворень до повністю злоякісних пухлин.

Organism Миша

Tissue Шкіра

Synonyms MCA3D, MCa3D, MCA/3D, MCA 3D

Характеристики

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Жінка

Cell type Кератиноцит

Growth properties Адепт

Клітини MCA-3D | 400437

Нормативні дані

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

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM стабільний глютамін, w: 1,0 mM піруват натрію, w: 1,1 г/л NaHCO ₃ (Cytion артикул 820600a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть середовище і промийте прилипли клітини, використовуючи PBS без кальцію і магнію (3-5 мл PBS для T25, 5-10 мл для T75 флаконів з культурою клітин). Додайте TrypleExpress (1-2 мл на T25, 2,5 мл на T75), лист з клітинами повинен бути повністю покритий. Інкубуйте при 37 градусах Цельсія протягом 15-20 хвилин. Обережно ресуспендуйте клітини в середовищі (10 мл), центрифугуйте протягом 5 хвилин при 300xg, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та розподіліть у нові колби, що містять свіже середовище.
Seeding density	Від 0,5 до 1 x 10 ⁴ клітин/см ²
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10 ⁴ клітин/см ² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини MCA-3D | 400437

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.