

Cellules MCA-3D | 400437

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire MCA-3D est issue de cultures épidermiques primaires de souris qui présentent une résistance à la différenciation terminale induite par le calcium. Ces cellules ont d'abord été traitées avec les agents cancérigènes N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) ou 7,12-diméthylbenz[a]anthracène (DMBA), puis exposées au 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA). La résistance à la différenciation terminale a été évaluée en augmentant les concentrations de calcium dans le milieu de culture à 1,2 mM, ce qui permet la croissance sélective des cellules transformées tandis que les cellules normales subissent généralement une différenciation terminale et meurent.

La lignée cellulaire MCA-3D présente une morphologie épithéliale et forme des colonies bien définies en culture. L'analyse ultrastructurale révèle que les cellules MCA-3D contiennent des filaments de kératine et des desmosomes, ce qui témoigne de leur origine épithéliale et suggère le maintien d'un certain degré de différenciation kératinocytaire normale. Toutefois, l'abondance exacte de ces structures peut varier d'une sous-population à l'autre au sein de la lignée.

La tumorigénicité des cellules MCA-3D a été évaluée par injection sous-cutanée chez des nouveau-nés syngéniques de souche Balb/c; les résultats indiquent que cette lignée n'est pas tumorigène, même après une culture prolongée dans des conditions de forte concentration en calcium. De plus, les cellules MCA-3D ne se développent pas dans l'agar mou, ce qui confirme encore davantage leur phénotype non malin. Des analyses biochimiques de l'activité de la gamma-glutamyltranspeptidase (GGT) et de la transglutaminase ont montré que les cellules MCA-3D sont négatives pour la GGT, et que leur activité transglutaminase n'est pas corrélée au potentiel tumorigène, ce qui concorde avec leur classification comme non tumorigènes.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire MCA-3D sert de modèle pour l'étude des premiers stades de la carcinogenèse et des facteurs qui influencent la progression des lésions prénéoplasiques vers des tumeurs pleinement malignes.

Organism Souris

Tissue Peau

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

Caractéristiques

Breed/Subspecies BALB/c

Gender Femme

Cell type Kératinocyte

Growth properties Adepte

Cellules MCA-3D | 400437

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	F12 de Ham, contenant : 1,0 mM de glutamine stable, 1,0 mM de pyruvate de sodium, 1,1 g/L de NaHCO ₃ (référence Cytion 820600a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	TrypLE Express
Subculturing	Retirez le milieu de culture et rincez les cellules adhérentes à l'aide de PBS sans calcium ni magnésium (3 à 5 ml de PBS pour les flacons de culture T25, 5 à 10 ml pour les flacons T75). Ajouter du TrypleExpress (1 à 2 ml par flacon de culture cellulaire T25, 2,5 ml par flacon T75); la couche cellulaire doit être entièrement recouverte. Incuber à 37 °C pendant 15 à 20 minutes. Remettre soigneusement les cellules en suspension dans du milieu (10 ml), centrifuger pendant 5 minutes à 300 x g, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les répartir dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.
Seeding density	de 0,5 à 1 × 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de 5 × 10 ⁴ cellules/cm ² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules MCA-3D | 400437

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.