

Células MCA-3D | 400437**Informações gerais****Description**

A linhagem celular MCA-3D é derivada de culturas epidérmicas primárias de camundongo que apresentam resistência à diferenciação terminal induzida pelo cálcio. Essas células foram inicialmente tratadas com os carcinógenos N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) ou 7,12-dimetilbenz[a]antraceno (DMBA), e, posteriormente, expostas ao 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). A resistência à diferenciação terminal foi avaliada por meio do aumento dos níveis de cálcio no meio de cultura para 1,2 mM, o que permite seletivamente o crescimento de células transformadas, enquanto as células normais, tipicamente, sofrem diferenciação terminal e morte.

A linhagem celular MCA-3D apresenta morfologia epitelial e forma colônias bem definidas em cultura. A análise ultraestrutural revela que as células MCA-3D contêm filamentos de queratina e desmossomos, o que é indicativo de sua origem epitelial e sugere a manutenção de algum grau de diferenciação normal dos queratinócitos. No entanto, a abundância exata dessas estruturas pode variar entre as subpopulações da linha.

As células MCA-3D foram testadas quanto à tumorigênese por meio de injeção subcutânea em recém-nascidos Balb/c singênicos, com resultados indicando que essa linhagem não é tumorigênica, mesmo após cultura prolongada em condições de alto teor de cálcio. Além disso, as células MCA-3D não crescem em ágar mole, o que reforça ainda mais seu fenótipo não maligno. Ensaio bioquímico para a atividade da gama-glutamyltranspeptidase (GGT) e da transglutaminase demonstraram que as células MCA-3D são negativas para GGT, e que sua atividade transglutaminase não se correlaciona com o potencial tumorigênico, o que está em consonância com sua classificação como não tumorigênicas.

De modo geral, a linhagem celular MCA-3D serve como modelo para o estudo dos estágios iniciais da carcinogênese e dos fatores que influenciam a progressão de lesões pré-neoplásicas para tumores totalmente malignos.

Organism Mouse**Tissue** Pele**Synonyms** MCA3D, MCA3D, MCA/3D, MCA 3D**Características****Breed/Subspecies** BALB/c**Gender** Mulher**Cell type** Queratinócito**Growth properties** Aderente

Células MCA-3D | 400437**Dados regulatórios**

Citation	MCA-3D (número de catálogo da Cytion 400437)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5797

Dados biomoleculares**Manuseio**

Culture Medium	F12 de Ham, contendo: 1,0 mM de glutamina estável, 1,0 mM de piruvato de sódio e 1,1 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo da Cytion: 820600a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	TrypLE Express
Subculturing	Remova o meio e enxágue as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (3-5 ml de PBS para frascos de cultura celular T25, 5-10 ml para frascos T75). Adicione TrypleExpress (1 a 2 ml por frasco de cultura celular T25, 2,5 ml por frasco T75); a camada celular deve ficar totalmente coberta. Incube a 37 graus Celsius por 15 a 20 minutos. Ressuspender cuidadosamente as células com meio (10 ml), centrifugar por 5 minutos a 300xg, ressuspender as células em meio fresco e distribuir em novos frascos contendo meio fresco.
Seeding density	0,5 a 1×10^4 células/cm ²
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm ² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células MCA-3D | 400437

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células MCA-3D | 400437

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.