

Клетки MCF10A | 305026

Обща информация

Description

Епителната клетъчна линия MCF10A, създадена от млечната жлеза на 36-годишна жена с фиброкистозна болест, служи като модел за изучаване на тънкостите на нормалната функция на клетките на гърдата, трансформацията и прехода от епителен към мезенхимен тип, който е критичен при инвазивния карцином на гърдата.

Като нетуморогенна епителна клетъчна линия, получена от доброкачествена пролиферативна тъкан на гърдата, клетките MCF10A са от съществено значение за изследванията на клетките на гърдата, като предлагат поглед върху прогресията на тумора на гърдата и динамиката на туморните клетки в мамосферите. Клетките MCF10 A, характеризиращи се с триизмерен растеж в колаген и способност да образуват ацинарни структури в смесен Matrigel, осигуряват надежден модел за анализиране на въздействието на онкогени и изучаване на образуването на мамосфери, което е от решаващо значение за разбирането на свойствата на прогениторните клетки на млечната жлеза и ролята им в изследванията на рака.

Клетъчната линия MCF10A, въпреки че проявява базално-подобен фенотип, експресира комбинация от луминални и стволоподобни маркери, както и маркери на епителни клетки като цитокератини и млечни протеини. Реакцията им към инсулин, глюкокортикоиди, холерен ентеротоксин и епидермален растежен фактор (EGF) подчертава значението на растежните фактори и хормоните за пролиферацията и оцеляването на клетките на човешката гърдна тъкан.

Моделът MCF 10A, осигурява прозорец към геномните сигнални пътища, които управляват поведението и фенотипа на клетките в 3D култура, като предлага платформа за имунохистохимия и имунофлуоресцентно оцветяване за визуализиране на клетъчните процеси.

Тези клетки са от решаващо значение за изучаване на прехода на клетките на млечната жлеза по време на развитието на рака на гърдата, включително ролята на генотоксичността на продукта на липидното окисление и въздействието на хранителни компоненти като соевия трипсинов инхибитор върху клетъчната функция. Освен това сравнението на клетъчната линия MCF 10A с други линии като MCF7 (която е туморогенна и естроген рецептор позитивна) и MCF10F (друга нетуморогенна линия, но с различни характеристики) обогатява изследванията на рака на гърдата, като предоставя разнообразни модели за разбиране на спектъра от неинвазивни до силно метастатични фенотипове.

Organism

Човек

Tissue

Млечна жлеза, гърда

Synonyms

MCF-10A, MCF 10A, MCF.10A, MCF10A, MCF10-A, MCF10a, MCF-10 Приложен, Michigan Cancer Foundation-10A

Характеристики

Age

36 години

Gender

Жена

Morphology

Епителиален

Клетки MCF10A | 305026

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation MCF10A (каталожен номер 305026 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0598

Биомолекулярни данни

Tumorigenic Не

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 5% конски серум, 20 ng/ml EGF, 0,5 микрограма/ml Hydrocortison, 10 микрограма/ml Insulin. Ако е необходимо, добавете 100 ng/mL холерен токсин.

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MCF10A | 305026

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MCF10A | 305026

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.