

MCF10A šūnas | 305026

Vispārīga informācija

Description

MCF10A cilvēka krūts epitēlija šūnu līnija, kas izveidota no 36 gadus vecas sievietes ar fibrocistisku slimību piena dziedzerā, kalpo kā modelis, lai pētītu normālas krūts šūnu funkcijas, transformācijas un invazīvās krūts karcinomas pāreju no epitēlija uz mezenhīmu.

MCF10A šūnas ir epitēlija šūnu līnija, kas nav tumorigēna, bet iegūta no labdabīgi proliferējošiem krūts audiem, tāpēc MCF10A šūnas ir noderīgas krūts šūnu pētījumos, sniedzot ieskatu krūts audzēja progresijā un audzēja šūnu dinamikā mammosfērās. MCF10 A šūnas, kam raksturīga trīsdimensiju augšana kolagēnā un spēja veidot acināru struktūras jauktā Matrigelā, ir uzticams modelis onkogēnu ietekmes analīzei un mammosfēras veidošanās izpētei, kas ir ļoti svarīga, lai izprastu piena dziedzeru progenitoršūnu īpašības un to lomu vēža pētījumos.

MCF10A šūnu līnija, lai gan tai piemīt bazālajam fenotipam līdzīgs fenotips, ekspresē luminālo un cilmes tipa marķieru kombināciju, kā arī epitēlija šūnu marķierus, piemēram, citokeratīnus un piena proteīnus. To reakcija uz insulīnu, glikokortikoidiem, holēras enterotoksīnu un epidermas augšanas faktoru (EGF) uzsver augšanas faktoru un hormonu nozīmi cilvēka krūts audu šūnu proliferācijā un izdzīvošanā.

MCF 10A modelis ļauj ieskatīties genomu signālu ceļos, kas regulē šūnu uzvedību un fenotipu 3D kultūrā, piedāvājot platformu imūnhistoķīmijas un imunofluorescences krāsošanai, lai vizualizētu šūnu procesus. Šīs šūnas ir ļoti svarīgas, lai pētītu krūts šūnu pāreju krūts vēža attīstības laikā, tostarp lipīdu oksidācijas produktu genotoksitātes lomu un uztura komponentu, piemēram, sojas tripsīna inhibitora, ietekmi uz šūnu funkcijām. Turklāt MCF 10A šūnu līnijas salīdzinājums ar citām līnijām, piemēram, MCF7 (kas ir tumorigēna un estrogēnu receptori pozitīva) un MCF10F (cita netumorigēna līnija, bet ar atšķirīgām īpašībām), bagātina krūts vēža pētījumus, nodrošinot daudzveidīgus modeļus, lai izprastu neinvazīvu līdz ļoti metastātisku fenotipu spektru.

Organism

Cilvēks

Tissue

Krūts dziedzeris, krūts

Synonyms

MCF-10A, MCF 10A, MCF.10A, MCF10A, MCF10A, MCF10-A, MCF10a, MCF-10 Pielikums, Mičiganas Vēža fonds-10A

Raksturojums

Age

36 gadi

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

MCF10A šūnas | 305026

Normatīvie dati

Citation	MCF10A (Cytion kataloga numurs 305026)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0598

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Nē
-------------	----

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 5% zirgu seruma, 20 ng/ml EGF, 0,5 mikrogramus/ml hidrokortizona, 10 mikrogramus/ml insulīna. Vajadzības gadījumā pievienot 100 ng/ml holēras toksīna.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

MCF10A šūnas | 305026

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MCF10A šūnas | 305026

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.