

Células MCF10A | 305026**Informações gerais****Description**

A linha celular epitelial mamária humana MCF10A, estabelecida a partir da glândula mamária de uma mulher de 36 anos com doença fibrocística, serve de modelo para o estudo dos meandros da função normal das células da mama, da transformação e da transição epitelial para mesenquimal, crítica na transição para o carcinoma da mama invasivo.

Sendo uma linha de células epiteliais não tumorigênicas derivada de tecido mamário proliferativo benigno, as células MCF10A são fundamentais para o estudo das células mamárias, oferecendo conhecimentos sobre a progressão dos tumores da mama e a dinâmica das células tumorais nas mammosferas. As células MCF10A, caracterizadas pelo seu crescimento tridimensional em colagénio e pela sua capacidade de formar estruturas acinares em Matrigel misto, constituem um modelo fiável para analisar o impacto dos oncogenes e estudar a formação da mammosfera, o que é crucial para compreender as propriedades das células progenitoras mamárias e o seu papel na investigação do cancro.

A linha de células MCF10A, embora exibindo um fenótipo do tipo basal, expressa uma combinação de marcadores luminais e do tipo estaminal, bem como marcadores de células epiteliais, tais como citoqueratinas e proteínas do leite. A sua capacidade de resposta à insulina, aos glucocorticóides, à enterotoxina da cólera e ao fator de crescimento epidérmico (EGF) sublinha a importância dos factores de crescimento e das hormonas na proliferação e sobrevivência das células do tecido mamário humano.

O modelo MCF 10A proporciona uma janela para as vias de sinalização genómica que regem o comportamento e o fenótipo das células em cultura 3D, oferecendo uma plataforma para a coloração por imuno-histoquímica e imunofluorescência para visualizar os processos celulares.

Estas células são cruciais para o estudo da transição das células mamárias durante o desenvolvimento do cancro da mama, incluindo o papel da genotoxicidade do produto da oxidação lipídica e o impacto dos componentes da dieta, como o inibidor de tripsina da soja, na função celular. Além disso, a comparação da linha celular MCF 10A com outras linhas, como a MCF7 (que é tumorigénica e positiva para o recetor de estrogénio) e a MCF10F (outra linha não tumorigénica, mas com características diferentes), enriquece a investigação sobre o cancro da mama, fornecendo modelos diversos para compreender o espectro de fenótipos não invasivos a altamente metastáticos.

Organism

Humano

Tissue

Glândula mamária, peito

Synonyms

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

Caraterísticas**Age**

36 anos

Gender

Feminino

Morphology

Epitelial

Células MCF10A | 305026

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Citation MCF10A (número de catálogo Cytion 305026)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0598

Dados biomoleculares

Tumorigenic Não

Manuseamento

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Suplementar o meio com 5% de soro de cavalo, 20 ng/mL de EGF, 0,5 microgramas/mL de hidrocortisona, 10 microgramas/mL de insulina. Se necessário, adicionar 100 ng/mL de toxina da cólera.**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Células MCF10A | 305026

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Células MCF10A | 305026

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,9
D16S539: 11,12
D5S818: 10,13
D7S820: 10,11
TH01: 8,9,3
TPOX: 9,11
vWA: 15,17
D3S1358: 14,18
D21S11: 28,3
D18S51: 18,19
Penta E: 13,14
Penta D: 10,12
D8S1179: 14,16
FGA: 22,24
D6S1043: 12,18
D2S1338: 21,26
D12S391: 17,2
D19S433: 13,15