

Κύτταρα MCF10A | 305026

Γενικές πληροφορίες

Description

Η ανθρώπινη επιθηλιακή κυτταρική σειρά του μαστού MCF10A, που δημιουργήθηκε από τον μαστικό αδένα μιας 36χρονης γυναίκας με ινοκυστική νόσο, χρησιμεύει ως μοντέλο για τη μελέτη των περιπλοκών της φυσιολογικής λειτουργίας των κυττάρων του μαστού, του μετασχηματισμού και της κρίσιμης μετάβασης από το επιθήλιο στο μεσεγχύμα κατά τη μετάβαση στο διηθητικό καρκίνωμα του μαστού.

Ως μια μη ογκογόνος επιθηλιακή κυτταρική σειρά που προέρχεται από καλοήγητ πολλαπλασιαστικό ιστό του μαστού, τα κύτταρα MCF10A είναι καθοριστικής σημασίας για τις μελέτες των μαστικών κυττάρων, προσφέροντας γνώσεις σχετικά με την εξέλιξη των όγκων του μαστού και τη δυναμική των καρκινικών κυττάρων στα μαστικά κύτταρα. Τα κύτταρα MCF10 A, τα οποία χαρακτηρίζονται από την τρισδιάστατη ανάπτυξη τους σε κολλαγόνο και την ικανότητά τους να σχηματίζουν ακτινωτές δομές σε μικτή Matrigel, παρέχουν ένα αξιόπιστο μοντέλο για την ανάλυση της επίδρασης των ογκογονιδίων και τη μελέτη του σχηματισμού της μαστόσφαιρας, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση των ιδιοτήτων των προγονικών κυττάρων του μαστού και του ρόλου τους στην έρευνα για τον καρκίνο.

Η κυτταρική σειρά MCF10A, ενώ παρουσιάζει φαινότυπο βασικής μορφής, εκφράζει έναν συνδυασμό λαμυρικών και βλαστικών δεικτών, καθώς και δεικτών επιθηλιακών κυττάρων, όπως κυτταροκερατίνες και πρωτεΐνες γάλακτος. Η ανταπόκρισή τους στην ινσουλίνη, τα γλυκοκορτικοειδή, την εντεροτοξίνη της χολέρας και τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGF) υπογραμμίζει τη σημασία των αυξητικών παραγόντων και των ορμονών στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων του ανθρώπινου ιστού του μαστού.

Το μοντέλο MCF 10A, παρέχει ένα παράθυρο στα γονιδιακά μονοπάτια σηματοδότησης που διέπουν τη συμπεριφορά και τον φαινότυπο των κυττάρων σε τρισδιάστατη καλλιέργεια, προσφέροντας μια πλατφόρμα για ανοσοϊστοχημεία και χρώση ανοσοφθορισμού για την απεικόνιση των κυτταρικών διεργασιών. Τα κύτταρα αυτά είναι ζωτικής σημασίας για τη μελέτη της μετάβασης των μαστικών κυττάρων κατά την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού, συμπεριλαμβανομένου του ρόλου της γονοτοξικότητας των προϊόντων οξείδωσης των λιπιδίων και του αντίκτυπου των διατροφικών συστατικών, όπως ο αναστολέας της θρυψίνης της σόγιας, στη λειτουργία των κυττάρων. Επιπλέον, η σύγκριση της κυτταρικής σειράς MCF 10A με άλλες σειρές όπως η MCF7 (η οποία είναι καρκινική και θετική στους υποδοχείς οιστρογόνων) και η MCF10F (μια άλλη μη καρκινική σειρά αλλά με διαφορετικά χαρακτηριστικά) εμπλουτίζει την έρευνα για τον καρκίνο του μαστού παρέχοντας ποικίλα μοντέλα για την κατανόηση του φάσματος από μη επεμβατικούς έως εξαιρετικά μεταστατικούς φαινότυπους.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Μαστικός αδένας, μαστός

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

36 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Κύτταρα MCF10A | 305026

Morphology Επιθηλιακό**Growth properties** Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation MCF10A (αριθμός καταλόγου Cytion 305026)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0598

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic Όχι

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 5% ορό αλόγου, 20 ng/mL EGF, 0,5 μικρογραμμάρια/mL υδροκορτιζόνη, 10 μικρογραμμάρια/mL ινσουλίνη. Προσθέστε 100 ng/mL τοξίνη χολέρας εάν χρειάζεται.**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα MCF10A | 305026**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα MCF10A | 305026

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.