

MCF10A rakud | 305026

Üldine teave

Description

Inimese rinnanäärme epiteelirakuliin MCF10A, mis on loodud 36-aastase fibrotsüstilise haigusega naise rinnanäärme rakuliinist, on mudeliks rinnanäärme normaalse rakufunktsiooni, transformatsiooni ja invasiivse rinnanäärmekartsinoomi ülemineku kriitilise epiteeli ja mesenhüümi vahelise ülemineku keerukuse uurimiseks.

MCF10A rakud kui healoomulisest proliferatiivsest rinnakust saadud mittetuumoriline epiteelirakuliin on rinnanäärme rakkude uuringutes väga olulised, andes ülevaate rinnakasvaja progresseerumisest ja kasvajakude dünaamikast mammosfääris. MCF10 A rakud, mida iseloomustab nende kolmemõõtmeline kasv kollageenis ja nende võime moodustada akiinseid struktuure segatud Matrigelis, pakuvad usaldusväärset mudelit onkogeenide mõju analüüsimiseks ja mammosfääri moodustumise uurimiseks, mis on ülioluline rinnanäärme eellaste omaduste ja nende rolli mõistmiseks vähiuuringutes.

MCF10A rakuliin, mis näitab basaalsed fenotüüpi, ekspresseerib kombinatsiooni luminaalsetest ja tüvelistest markeritest ning epiteelirakkude markeritest, nagu tsütokeratiinid ja piimavalkud. Nende tundlikkus insuliini, glükokortikoidide, kolea enterotoksiini ja epidermise kasvufaktori (EGF) suhtes rõhutab kasvufaktorite ja hormoonide tähtsust inimese rinnanäärme rakkude proliferatsioonis ja ellujäämises.

MCF 10A mudel annab ülevaate genoomsetest signaaliradadest, mis reguleerivad rakkude käitumist ja fenotüüpi 3D-kultuuris, pakkudes platvormi immunohistokeemia ja immunofluorestsentsvärvimise jaoks, et visualiseerida rakulisi protsesse.

Need rakud on üliolulised rinnavähi arengu ajal toimuva rinnanäärme rakkude ülemineku uurimiseks, sealhulgas lipiidide oksüdatsioonitoote genotoksilisuse rolli ja selliste toitumiskomponentide nagu soja trüpsiini inhibiitori mõju rakkude toimimisele. Lisaks sellele rikastab MCF 10A rakuliini võrdlus teiste liinidega, nagu MCF7 (mis on tuumorigeenne ja östrogeni retseptor-positiivne) ja MCF10F (teine mittetuumorigeenne, kuid teistsuguste omadustega liin), rinnavähiuuringuid, pakkudes mitmekesiseid mudeleid mitteinvasiivsete kuni tugevalt metastaatiliste fenotüüpide spektri mõistmiseks.

Organism Inimene

Tissue Rinnanäärme, rind

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

Omadused

Age 36 aastat

Gender Naised

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

MCF10A rakud | 305026

Regulatiivsed andmed

Citation	MCF10A (Cytioni katalooginumber 305026)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0598

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Ei
--------------------	----

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820400a)
Supplements	Täiendatakse keskkonda 5% hobuse seerumiga, 20 ng/ml EGF, 0,5 mikrogrammi/ml hüdrokortisooni, 10 mikrogrammi/ml insuliini. Vajaduse korral lisage 100 ng/ml kooleeratoksiini.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

MCF10A rakud | 305026

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MCF10A rakud | 305026

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.