

Komórki MCF10A | 305026**Informacje ogólne****Description**

Linia ludzkich komórek nabłonkowych sutka MCF10A, utworzona z gruczołu sutkowego 36-letniej kobiety z chorobą włóknisto-torbielowatą, służy jako model do badania zawitości normalnej funkcji komórek piersi, transformacji i przejścia nabłonkowego do mezenchymalnego krytycznego w inwazyjnym przejściu raka piersi.

Jako nienowotworowa linia komórek nabłonkowych pochodząca z łagodnej proliferacyjnej tkanki piersi, komórki MCF10A odgrywają kluczową rolę w badaniach nad komórkami sutka, oferując wgląd w progresję guza piersi i dynamikę komórek nowotworowych w mammosferach. Komórki MCF10A, charakteryzujące się trójwymiarowym wzrostem w kolagenie i zdolnością do tworzenia struktur acinarnych w mieszanym Matrigelu, stanowią wiarygodny model do analizy wpływu onkogenów i badania tworzenia mammosfer, co ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia właściwości komórek progenitorowych sutka i ich roli w badaniach nad rakiem.

Linia komórkowa MCF10A, wykazując fenotyp podobny do podstawowego, wyraża kombinację markerów luminalnych i macierzystych, a także markerów komórek nabłonkowych, takich jak cytokeratyny i białka mleka. Ich reaktywność na insulinę, glukokortykoidy, enterotoksynę cholery i naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) podkreśla znaczenie czynników wzrostu i hormonów w proliferacji i przeżyciu ludzkich komórek tkanki piersi.

Model MCF 10A zapewnia wgląd w genomowe szlaki sygnałowe, które regulują zachowanie i fenotyp komórek w hodowli 3D, oferując platformę do immunohistochemii i barwienia immunofluorescencyjnego w celu wizualizacji procesów komórkowych.

Komórki te mają kluczowe znaczenie dla badania transformacji komórek sutka podczas rozwoju raka piersi, w tym roli genotoksyczności produktów utleniania lipidów i wpływu składników diety, takich jak sojowy inhibitor tripsyny, na funkcjonowanie komórek. Co więcej, porównanie linii komórkowej MCF 10A z innymi liniami, takimi jak MCF7 (która jest nowotworowa i dodatnia pod względem receptora estrogenowego) i MCF10F (inna linia nienowotworowa, ale o innych cechach) wzbogaca badania nad rakiem piersi, zapewniając różnorodne modele do zrozumienia spektrum fenotypów od nieinwazyjnych do wysoce przerzutowych.

Organism Człowiek**Tissue** Gruczoł sutkowy, piersć**Synonyms** MCF-10A, MCF 10A, MCF.10A, MCF10A, MCF10-A, MCF10a, MCF-10 Attached, Michigan Cancer Foundation-10A**Charakterystyka****Age** 36 lat**Gender** Kobieta**Morphology** Nabłonek**Growth properties** Adherent

Komórki MCF10A | 305026**Dane regulacyjne**

Citation	MCF10A (numer katalogowy Cytion 305026)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0598

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Nie
--------------------	-----

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 5% surowicą końską, 20 ng/ml EGF, 0,5 mikrograma/ml hydrokortyzonu, 10 mikrogramów/ml insuliny. W razie potrzeby dodać 100 ng/ml toksyny cholery.
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki MCF10A | 305026**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MCF10A | 305026**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil 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: 28,30
D18S51: 18,19
Penta E: 13,14
Penta D: 10,12
D8S1179: 14,16
FGA: 22,24
D6S1043: 12,18
D2S1338: 21,26
D12S391: 17,20
D19S433: 13,15