

Клетки NCM460 | 305430

Обща информация

Description

Клетъчната линия NCM460 е получена от нормални епителни клетки на лигавицата на дебелото черво и представлява важен *in vitro* модел за изучаване на физиологията и патологията на червата. Тази клетъчна линия е създадена от хистологично нормална тъкан, изолирана по време на операция от пациент с рак на стомаха, по-конкретно от напречния ръб на дебелото черво, считан за свободен от злокачествени промени. Клетките NCM460 притежават характеристики, типични за епителните клетки на стомашно-чревния тракт, включително експресия на маркери като вилин и човешки секреторен компонент, което потвърждава техния епителен произход. Важно е да се отбележи, че тези клетки поддържат нетуморен фенотип, което се доказва от неспособността им да растат в мек агар и липсата на туморно образуване при голи мишки.

Култивирането на NCM460 клетки изисква специализирани условия за поддържане на растежа им като смесена система от суспензия и монослой, отразяваща различни етапи на епителна диференциация. Наличието на муцин-положителни клетки и експресия на невроендокринни маркери в някои субпопулации предполага запазена способност за многолинейност, което е показателно за стволоподобен компонент в клетъчната популация. Това свойство прави NCM460 особено полезен за изследвания на клетъчната диференциация, преноса на лекарства и функциите на епителната бариера.

NCM460 се прилага широко в изследвания, насочени към прогресията на рака на дебелото черво, като позволява сравнение между нормални и болни епителни клетки. Той също така служи като платформа за изследване на въздействието на диетични компоненти, фармацевтични продукти и други външни фактори върху здравето и заболяванията на епителния на дебелото черво. Тази клетъчна линия предлага надежден инструмент за подобряване на разбирането ни за стомашно-чревната биология на клетъчно и молекулярно ниво.

Organism Човек

Tissue Дебело черво, лигавица

Disease Нормален

Synonyms NCM-460

Характеристики

Age 68 години

Gender Мъжки

Ethnicity Испанците

Morphology Подобни на епител

Клетки NCM460 | 305430

Cell type	Епителна клетка
------------------	-----------------

Growth properties	Придържащи се
--------------------------	---------------

Регулаторни данни

Citation	NCM460 (каталожен номер 305430 на Cytion)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0460
-----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Не, тествано при голи мишки и атимни мишки
--------------------	--

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Добавете към средата 10% FBS и 1% NEAA.
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	32-38 часа
----------------------	------------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	--

Клетки NCM460 | 305430

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки NCM460 | 305430

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.