

Buňky NCM460 | 305430

Obecné informace

Description

Buněčná linie NCM460 je odvozena z normálních epitelálních buněk lidské sliznice tlustého střeva a představuje důležitý in vitro model pro studium lidské střevní fyziologie a patologie. Tato buněčná linie byla vytvořena z histologicky normální tkáň izolované při operaci pacienta s karcinomem žaludku, konkrétně z příčného okraje tlustého střeva považovaného za prostý maligních změn. Buňky NCM460 vykazují vlastnosti typické pro gastrointestinální epitelální buňky, včetně exprese markerů, jako je villin a lidská sekreční složka, což potvrzuje jejich epitelální původ. Důležité je, že tyto buňky si zachovávají nenádorový fenotyp, což se projevuje jejich neschopností růst v měkkém agaru a absencí tvorby nádorů u nahých myši.

Kultivace buněk NCM460 vyžaduje specializované podmínky pro podporu jejich růstu jako systému smíšené suspenze a monovrstvy, což odráží různá stadia epitelální diferenciace. Přítomnost mucin-pozitivních buněk a exprese neuroendokrinních markerů v některých subpopulacích naznačuje zachovanou schopnost multilineárního vývoje, což svědčí o kmenové složce v populaci buněk. Díky této vlastnosti je NCM460 zvláště užitečný pro studie diferenciace buněk, transportu léčiv a epitelálních bariérových funkcí.

NCM460 se široce uplatňuje ve výzkumu zaměřeném na progresi rakoviny tlustého střeva a umožňuje porovnávat normální a nemocné epitelální buňky. Slouží také jako platforma pro zkoumání účinků složek stravy, léčiv a dalších vnějších faktorů na zdraví a onemocnění epitelu tlustého střeva. Tato buněčná linie nabízí spolehlivý nástroj pro lepší pochopení biologie gastrointestinálního traktu na buněčné a molekulární úrovni.

Organism Člověk

Tissue Tlusté střevo, sliznice

Disease Normální

Synonyms NCM-460

Charakteristika

Age 68 let

Gender Muži

Ethnicity Hispánci

Morphology Epitelu podobné

Cell type Epitelová buňka

Growth properties Adherentní

Buňky NCM460 | 305430

Regulační údaje

Citation	NCM460 (katalogové číslo Cytion 305430)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0460

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ne, testováno na nahých myších a athymických myších
--------------------	---

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA.
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	32-38 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky NCM460 | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCM460 | 305430

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.