

NCM460-Zellen | 305430

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie NCM460 wird aus normalen menschlichen Dickdarmschleimhautepithelzellen gewonnen und ist ein wichtiges In-vitro-Modell für die Untersuchung der Physiologie und Pathologie des menschlichen Darms. Diese Zelllinie wurde aus histologisch normalem Gewebe hergestellt, das bei der Operation eines Magenkrebspatienten isoliert wurde, und zwar aus dem Rand des Querdarmes, der als frei von bösartigen Veränderungen gilt. NCM460-Zellen weisen typische Merkmale von gastrointestinalen Epithelzellen auf, darunter die Expression von Markern wie Villin und der menschlichen sekretorischen Komponente, was ihren epithelialen Ursprung bestätigt. Wichtig ist, dass diese Zellen einen nicht-tumorigenen Phänotyp beibehalten, wie ihre Unfähigkeit, in Weichagar zu wachsen, und das Fehlen von Tumorbildung in Nacktmäusen zeigen.

Die Kultur von NCM460-Zellen erfordert spezielle Bedingungen, um ihr Wachstum als gemischtes Suspensions-Monolayer-System zu unterstützen, das verschiedene Stadien der epithelialen Differenzierung widerspiegelt. Das Vorhandensein von Muzin-positiven Zellen und die Expression neuroendokriner Marker in einigen Subpopulationen deutet auf eine beibehaltene Multilinearität hin, was auf eine stammähnliche Komponente innerhalb der Zellpopulation hindeutet. Diese Eigenschaft macht NCM460 besonders nützlich für Studien zur Zelldifferenzierung, zum Medikamententransport und zu epithelialen Barrierefunktionen.

NCM460 wurde in der Forschung mit Schwerpunkt auf dem Fortschreiten von Dickdarmkrebs weithin eingesetzt und ermöglicht Vergleiche zwischen normalen und erkrankten Epithelzellen. Sie dient auch als Plattform für die Untersuchung der Auswirkungen von Nahrungsbestandteilen, Arzneimitteln und anderen externen Faktoren auf die Gesundheit und Krankheit von Darmepithelzellen. Diese Zelllinie bietet ein robustes Instrument, um unser Verständnis der gastrointestinalen Biologie auf zellulärer und molekularer Ebene zu verbessern.

Organism Menschen

Tissue Dickdarm, Schleimhaut

Disease Normal

Synonyms NCM-460

Merkmale

Age 68 Jahre

Gender Männlich

Ethnicity Hispanisch

Morphology Epithelähnlich

Cell type Epithelzelle

NCM460-Zellen | 305430

Growth properties Adhärenz

Regulatorische Daten

Citation NCM460 (Cytion-Katalognummer 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Biomolekulare Daten

Tumorigenic Nein, getestet an Nacktmäusen und athymischen Mäusen

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS und 1 % NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 Stunden

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenz Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NCM460-Zellen | 305430

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

**Freezing
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NCM460-Zellen | 305430

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.