Product sheet

Κύτταρα NCM460 | 305430

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά NCM460 προέρχεται από φυσιολογικά ανθρώπινα βλεννογονικά επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου, παρέχοντας ένα κρίσιμο in vitro μοντέλο για τη μελέτη της φυσιολογίας και της παθολογίας του ανθρώπινου εντέρου. Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε από ιστολογικά φυσιολογικό ιστό που απομονώθηκε κατά τη διάρκεια χειρουργικής επέμβασης από ασθενή με καρκίνο του στομάχου, συγκεκριμένα από το εγκάρσιο περιθώριο του παχέος εντέρου που θεωρείται ελεύθερο κακοήθων αλλαγών. Τα κύτταρα NCM460 παρουσιάζουν χαρακτηριστικά τυπικά των επιθηλιακών κυττάρων του γαστρεντερικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης δεικτών όπως η βιλλίνη και το ανθρώπινο εκκριτικό συστατικό, επιβεβαιώνοντας την επιθηλιακή τους προέλευση. Είναι σημαντικό ότι τα κύτταρα αυτά διατηρούν έναν μη ογκογόνο φαινότυπο, όπως αποδεικνύεται από την αδυναμία τους να αναπτυχθούν σε μαλακό άγαρ και την έλλειψη σχηματισμού όγκου σε γυμνά ποντίκια. Η καλλιέργεια των κυττάρων NCM460 απαιτεί εξειδικευμένες συνθήκες για την υποστήριξη της ανάπτυξής τους ως μικτό σύστημα εναιωρήματος-μονοστρώματος, που αντικατοπτρίζει τα διάφορα στάδια της επιθηλιακής διαφοροποίησης. Η παρουσία βλεννοθετικών κυττάρων και η έκφραση νευροενδοκρινικών δεικτών σε ορισμένους υποπληθυσμούς υποδηλώνει ότι διατηρείται η ικανότητα πολυγραμμικότητας, ενδεικτική ενός βλαστοειδούς συστατικού εντός του κυτταρικού πληθυσμού. Η ιδιότητα αυτή καθιστά το NCM460 ιδιαίτερα χρήσιμο για μελέτες σχετικά με τη διαφοροποίηση των κυττάρων, τη μεταφορά φαρμάκων και τις λειτουργίες του επιθηλιακού φραγμού. Το NCM460 έχει εφαρμοστεί ευρέως σε έρευνες που επικεντρώνονται στην εξέλιξη του καρκίνου του παχέος εντέρου, επιτρέποντας συγκρίσεις μεταξύ φυσιολογικών και ασθενών επιθηλιακών κυττάρων. Χρησιμεύει επίσης ως πλατφόρμα για τη διερεύνηση των επιδράσεων των διατροφικών συστατικών, των φαρμακευτικών προϊόντων και άλλων εξωτερικών παραγόντων στην υγεία και τη νόσο του επιθηλίου του παχέος εντέρου. Αυτή η κυτταρική σειρά προσφέρει ένα ισχυρό εργαλείο για την προώθηση της κατανόησης της γαστρεντερικής βιολογίας σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κόλον, βλεννογόνος
Disease	Κανονικό
Synonyms	NCM-460

Χαρακτηριστικά

Age	68 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Ισπανόφωνος

Κύτταρα NCM460 | 305430

Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακό κύτταρο
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	NCM460 (αριθμός καταλόγου Cytion 305430)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0460

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic	Όχι, δοκιμάστηκε σε γυμνά ποντίκια και αθυμικά ποντίκια

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	32-38 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Κύτταρα NCM460 | 305430

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα NCM460 | 305430

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.