

## NCM460 rakud | 305430

## Üldine teave

## Description

NCM460 rakuliin on saadud inimese normaalsetest käärsoole limaskesta epiteelirakkudest, mis on oluline in vitro mudel inimese soolestiku füsioloogia ja patoloogia uurimiseks. See rakuliin loodi histoloogiliselt normaalsest koest, mis isoleeriti maovähiga patsiendi operatsiooni käigus, täpsemalt pahaolulistest muutustest vabaks peetavast põikikoolo servast. NCM460 rakkudel on seedetrakti epiteelirakkudele iseloomulikud omadused, sealhulgas selliste markerite nagu villiin ja inimese sekretoorne komponent ekspressioon, mis kinnitab nende epiteelialast päritolu. Oluline on see, et need rakud säilitavad mittetuumoriseeriva fenotüübi, mida näitab nende võimetus kasvada pehmel agaril ja kasvajate moodustumise puudumine alasti hiirtel.

NCM460 rakkude kasvatamiseks on vaja spetsiaalseid tingimusi, et toetada nende kasvu segasuspensiooni ja monokihi süsteemina, mis peegeldab epiteeli diferentseerumise erinevaid staadiume. Mütsiiniposiitsete rakkude olemasolu ja neuroendokriinsete markerite ekspressioon mõnes alampopulatsioonis viitab säilitatud multiliineerimisvõimele, mis viitab tüvelise komponendi olemasolule rakupopulatsioonis. See omadus muudab NCM460 eriti kasulikuks rakkude diferentseerumise, ravimitranspordi ja epiteeli barjääri funktsioonide uurimisel.

NCM460 on laialdaselt rakendatud uuringutes, mis keskenduvad käärsoolevähi progresseerumisele, võimaldades võrdlusi normaalsete ja haigete epiteelirakkude vahel. Samuti on see platvormiks, mille abil saab uurida toitumiskomponentide, ravimite ja muude väliste tegurite mõju jämesoole epiteeli tervisele ja haigustele. See rakuliin pakub tugevat vahendit, mis aitab meil paremini mõista seedetrakti bioloogiat raku- ja molekulaarsel tasandil.

**Organism** Inimene

**Tissue** Jämesool, limaskest

**Disease** Tavaline

**Synonyms** NCM-460

## Omadused

**Age** 68 aastat

**Gender** Mees

**Ethnicity** Hispaanlased

**Morphology** Epiteelilaadsed

**Cell type** Epiteelirakk

## NCM460 rakud | 305430

**Growth properties** Kinnipeetav

**Regulatiivsed andmed**

**Citation** NCM460 (Cytioni katalooginumber 305430)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0460

**Biomolekulaarsed andmed**

**Tumorigenic** Ei, testitud alasti hiirtel ja atüümsetel hiirtel

**Töötlemine**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

**Supplements** Täiendage keskkonda 10% FBS-i ja 1% NEAA-ga.

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 32-38 tundi

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## NCM460 rakud | 305430

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## NCM460 rakud | 305430

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.