

NCM460-kennot | 305430

Yleisiä tietoja

Description

NCM460-solulinja on peräisin ihmisen normaalista paksusuolen limakalvon epiteelisoluista, ja se tarjoaa kriittisen in vitro -mallin ihmisen suoliston fysiologian ja patologian tutkimiseen. Tämä solulinja perustettiin histologisesti normaalista kudoksesta, joka eristettiin mahasyöpäpotilaan leikkauksen aikana, erityisesti paksusuolen poikkileikkauksen marginaalista, jota pidettiin vapaana pahanlaatuisista muutoksista. NCM460-soluilla on ruoansulatuskanavan epiteelisoluille tyypillisiä ominaisuuksia, kuten villinin ja ihmisen erittävän komponentin kaltaisten merkkiaineiden ilmentyminen, mikä vahvistaa niiden epiteeliperäisyyden. Tärkeää on, että nämä solut säilyttävät kasvaimia aiheuttamattoman fenotyypin, kuten niiden kyvyttömyys kasvaa pehmeässä agarissa ja kasvainten muodostumisen puuttuminen alastomilla hiirillä osoittaa.

NCM460-solujen viljely vaatii erikoistuneita olosuhteita, jotta niiden kasvua voidaan tukea sekasuspensio-monokerros-järjestelmänä, joka heijastaa epiteelin erilaistumisen eri vaiheita. Mysiinipositiivisten solujen esiintyminen ja neuroendokriinisten merkkiaineiden ilmentyminen joissakin osapopulaatioissa viittaa siihen, että solupopulaatiossa on säilynyt monilinjainen kyky, mikä viittaa kantasolujen kaltaiseen komponenttiin. Tämä ominaisuus tekee NCM460:stä erityisen hyödyllisen solujen erilaistumista, lääkekuljetusta ja epiteelin esteen toimintaa koskevissa tutkimuksissa.

NCM460:tä on sovellettu laajalti paksusuolen syövän etenemiseen keskittyvässä tutkimuksessa, mikä mahdollistaa normaalien ja sairaiden epiteelisolujen vertailun. Se toimii myös alustana tutkittaessa ravinnon komponenttien, lääkkeiden ja muiden ulkoisten tekijöiden vaikutuksia paksusuolen epiteelin terveyteen ja sairauteen. Tämä solulinja tarjoaa vankan välineen, jonka avulla voidaan lisätä ymmärrystä ruoansulatuskanavan biologiasta solu- ja molekyyllitasolla.

Organism Ihminen

Tissue Paksusuoli, limakalvo

Disease Normaali

Synonyms NCM-460

Ominaisuudet

Age 68 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Hispanic

Morphology Epiteelin kaltainen

Cell type Epiteelisolu

NCM460-kennot | 305430

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation NCM460 (Cytionin luettelonumero 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic Ei, testattu alastomilla hiirillä ja athymic-hiirillä

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Lisää väliaineeseen 10 % FBS ja 1 % NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 tuntia

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Freeze medium Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCM460-kennot | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCM460-kennot | 305430

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.