

NCM460 cellák | 305430

Általános információk

Description

Az NCM460 sejtvonal normál humán vastagbélnyálkahártya-nyálkahártya hámsejtekből származik, és kritikus in vitro modellt biztosít a humán bél élettanának és patológiájának tanulmányozásához. Ezt a sejtvonalat egy gyomorrákos beteg műtétje során izolált, szövettanilag normális szövetből hozták létre, kifejezetten a rosszindulatú elváltozásoktól mentesnek tekintett haránt vastagbélsejtből. Az NCM460 sejtek a gasztrointesztinális epitelsejtekre jellemző tulajdonságokkal rendelkeznek, beleértve az olyan markerek kifejeződését, mint a villin és a humán szekréciós komponens, ami megerősíti epithel eredetüket. Fontos, hogy ezek a sejtek nem tumorigén fenotípust tartanak fenn, amit az is bizonyít, hogy nem képesek lágy agarban növekedni, és nem képeznek tumort meztelen egerekben.

Az NCM460 sejtek tenyésztéséhez speciális körülményekre van szükség, hogy vegyes szuszpenziós-monoréteges rendszerként támogassák növekedésüket, ami a hámdifferenciálódás különböző stádiumait tükrözi. A mucin-pozitív sejtek jelenléte és a neuroendokrin markerek expressziója egyes alpopulációkban arra utal, hogy a sejtpopulációban megmaradt a többvonalas képesség, ami egy őssejt-szerű komponensre utal. Ez a tulajdonság teszi az NCM460-at különösen hasznossá a sejt-differenciálódás, a gyógyszer-transzport és az epithelialis barrierfunkciók vizsgálatára.

Az NCM460-at széles körben alkalmazták a vastagbélrák progressziójára összpontosító kutatásokban, lehetővé téve a normális és a beteg epitelsejtek összehasonlítását. Emellett platformként szolgál az étrendi összetevők, gyógyszerek és egyéb külső tényezők vastagbélhám egészségére és betegségére gyakorolt hatásainak vizsgálatához. Ez a sejtvonal robusztus eszközt kínál a gyomor-bélrendszer biológiájának sejtszintű és molekuláris szintű megértéséhez.

Organism Emberi

Tissue Vastagbél, nyálkahártya

Disease Normál

Synonyms NCM-460

Jellemzők

Age 68 év

Gender Férfi

Ethnicity Spanyolul

Morphology Epithelszerű

Cell type Epithelsejt

NCM460 cellák | 305430

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation NCM460 (Cytion katalógusszám: 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic Nem, meztelen egereken és atímiás egereken tesztelték

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements Kiegészítse a táptalajt 10% FBS-sel és 1% NEAA-val.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

NCM460 cellák | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCM460 cellák | 305430

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.