

Cellule NCM460 | 305430

Informazioni generali

Description

La linea cellulare NCM460 deriva da cellule epiteliali normali della mucosa del colon umano, fornendo un modello in vitro fondamentale per lo studio della fisiologia e della patologia intestinale umana. Questa linea cellulare è stata creata a partire da tessuto istologicamente normale isolato durante l'intervento chirurgico di un paziente affetto da cancro gastrico, in particolare dal margine del colon trasverso considerato privo di alterazioni maligne. Le cellule NCM460 presentano caratteristiche tipiche delle cellule epiteliali gastrointestinali, tra cui l'espressione di marcatori come la villina e la componente secretoria umana, a conferma della loro origine epiteliale. È importante notare che queste cellule mantengono un fenotipo non tumorale, come dimostrato dalla loro incapacità di crescere in soft agar e dalla mancanza di formazione di tumori in topi nudi.

La coltura delle cellule NCM460 richiede condizioni specializzate per sostenere la loro crescita come sistema misto sospensione-monostrato, che riflette vari stadi di differenziazione epiteliale. La presenza di cellule positive alla mucina e l'espressione di marcatori neuroendocrini in alcune sottopopolazioni suggeriscono una capacità multilineare conservata, indicativa di una componente staminale all'interno della popolazione cellulare. Questa proprietà rende NCM460 particolarmente utile per studi sulla differenziazione cellulare, sul trasporto di farmaci e sulle funzioni di barriera epiteliale.

NCM460 è stato ampiamente applicato nella ricerca sulla progressione del cancro del colon, consentendo il confronto tra cellule epiteliali normali e malate. Serve anche come piattaforma per studiare gli effetti di componenti dietetici, farmaci e altri fattori esterni sulla salute e sulla malattia dell'epitelio del colon. Questa linea cellulare offre un solido strumento per migliorare la comprensione della biologia gastrointestinale a livello cellulare e molecolare.

Organism Umano

Tissue Colon, mucosa

Disease Normale

Synonyms NCM-460

Caratteristiche

Age 68 anni

Gender Uomo

Ethnicity Ispanico

Morphology Simile all'epitelio

Cell type Cellula epiteliale

Cellule NCM460 | 305430

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation NCM460 (numero di catalogo Cytion 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Dati biomolecolari

Tumorigenic No, testato su topi nudi e topi atimici

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Aggiungere al mezzo il 10% di FBS e l'1% di NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 ore

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule NCM460 | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCM460 | 305430

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.