

NCM460 šūnas | 305430

Vispārīga informācija

Description

NCM460 šūnu līnija ir iegūta no normālām cilvēka resnās zarnas gļotādas epitēlija šūnām, kas ir ļoti svarīgs in vitro modelis cilvēka zarnu fizioloģijas un patoloģijas pētījumiem. Šī šūnu līnija tika izveidota no histoloģiski normāliem audiem, kas izolēti kuņģa vēža pacienta operācijas laikā, jo īpaši no šķērsgala resnās zarnas malas, kas uzskatāma par brīvu no ļaundabīgām izmaiņām. NCM460 šūnām piemīt kuņģa-zarnu trakta epitēlija šūnām raksturīgās īpašības, tostarp tādu marķieru kā villīns un cilvēka sekrēcijas komponents ekspresija, kas apstiprina to epitēlija izcelsmi. Svarīgi ir tas, ka šīs šūnas saglabā netumozējošu fenotipu, par ko liecina to nespēja augt mīkstajā agārā un audzēju neveidošanās nude peļu organismā.

NCM460 šūnu kultivēšanai nepieciešami specializēti apstākļi, lai tās varētu augt kā jaukta suspensijas un monoslāņa sistēma, kas atspoguļo dažādas epitēlija diferenciācijas pakāpes. Mucīna pozitīvu šūnu klātbūtne un neuroendokrīno marķieru ekspresija dažās subpopulācijās liecina par saglabātām daudzlīniju spējām, kas norāda uz cilmes komponentu šūnu populācijā. Šī īpašība padara NCM460 īpaši noderīgu šūnu diferenciācijas, zāļu transporta un epitēlija barjeras funkciju pētījumiem.

NCM460 ir plaši izmantota pētījumos, kas vērsti uz resnās zarnas vēža progresēšanu, ļaujot salīdzināt normālas un slimas epitēlija šūnas. Tas kalpo arī kā platforma, lai pētītu uztura sastāvdaļu, farmaceitisko līdzekļu un citu ārējo faktoru ietekmi uz resnās zarnas epitēlija veselību un slimību. Šī šūnu līnija ir spēcīgs instruments, kas ļauj uzlabot mūsu izpratni par kuņģa un zarnu trakta bioloģiju šūnu un molekulārā līmenī.

Organism Cilvēks

Tissue Resnās zarnas, gļotāda

Disease Parasts

Synonyms NCM-460

Raksturojums

Age 68 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Latīņamerikāņu

Morphology Epitēlijveidīgs

Cell type Epitēlija šūna

Growth properties Adherent

NCM460 šūnas | 305430

Normatīvie dati

Citation	NCM460 (Cytion kataloga numurs 305430)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0460

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Nē, testēts ar kailām pelēm un atimiskām pelēm
--------------------	--

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % FBS un 1 % NEAA.
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	32-38 stundas
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

NCM460 šūnas | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCM460 šūnas | 305430

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.