

NCM460-celler | 305430

Generell informasjon

Description

NCM460-cellelinjen er avledet fra normale humane tykktarmsslimhinneepitelceller, og er en viktig in vitro-modell for studier av tarmfysiologi og -patologi hos mennesker. Denne cellelinjen ble etablert fra histologisk normalt vev som ble isolert under operasjonen av en magekreftpasient, nærmere bestemt fra den tverrgående tykktarmsmarginen som ble ansett som fri for ondartede forandringer. NCM460-celler har egenskaper som er typiske for gastrointestinale epitelceller, inkludert uttrykk av markører som villin og human sekretorisk komponent, noe som bekrefter deres epiteliale opprinnelse. Det er viktig å merke seg at disse cellene opprettholder en ikke-tumorigen fenotype, noe som demonstreres ved at de ikke kan vokse i myk agar og ikke danner svulster i nakne mus.

Dyrking av NCM460-celler krever spesialiserte forhold for å støtte veksten som et blandet suspensjons-monolagsystem, noe som gjenspeiler ulike stadier av epitelial differensiering. Tilstedeværelsen av mucin-positive celler og uttrykk for nevroendokrine markører i enkelte subpopulasjoner tyder på at cellene har beholdt evnen til å utvikle seg i flere stadier, noe som indikerer en stamcellelignende komponent i cellepopulasjonen. Denne egenskapen gjør NCM460 spesielt nyttig for studier av celledifferensiering, medikamenttransport og epiteliale barrierefunksjoner.

NCM460 har blitt mye brukt i forskning med fokus på progresjon av tykktarmskreft, noe som muliggjør sammenligninger mellom normale og syke epitelceller. Den fungerer også som en plattform for å undersøke effekten av kostholdskomponenter, legemidler og andre eksterne faktorer på tykktarmsepitellets helse og sykdom. Denne cellelinjen er et robust verktøy for å øke vår forståelse av gastrointestinal biologi på cellulært og molekylært nivå.

Organism Menneskelig

Tissue Tykktarm, slimhinne

Disease Normal

Synonyms NCM-460

Kjennetegn

Age 68 år

Gender Mann

Ethnicity Latinamerikansk

Morphology Epitel-lignende

Cell type Epitelcelle

NCM460-celler | 305430

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation NCM460 (Cytion-katalognummer 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Biomolekylære data

Tumorigenic Nei, testet i nakenmus og athymiske mus

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements Tilsett 10 % FBS og 1 % NEAA til mediet.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

NCM460-celler | 305430

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCM460-celler | 305430

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.