

Komórki NCM460 | 305430

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa NCM460 wywodzi się z prawidłowych ludzkich komórek nabłonka błony śluzowej okrężnicy, zapewniając krytyczny model in vitro do badania fizjologii i patologii ludzkiego jelita. Ta linia komórkowa została utworzona z histologicznie prawidłowej tkanki wyizolowanej podczas operacji od pacjenta z rakiem żołądka, w szczególności z poprzecznego marginesu okrężnicy uznanego za wolny od zmian złośliwych. Komórki NCM460 wykazują cechy typowe dla komórek nabłonkowych przewodu pokarmowego, w tym ekspresję markerów, takich jak villin i ludzki składnik wydzielniczy, potwierdzając ich nabłonkowe pochodzenie. Co ważne, komórki te zachowują fenotyp nienowotworowy, o czym świadczy ich niezdolność do wzrostu w miękkim agarze i brak tworzenia guzów u nagich myszy.

Hodowla komórek NCM460 wymaga specjalistycznych warunków, aby wspierać ich wzrost jako mieszanego systemu zawiesina-monowarstwa, odzwierciedlającego różne etapy różnicowania nabłonka. Obecność komórek mucynododatnich i ekspresja markerów neuroendokrynych w niektórych subpopulacjach sugeruje zachowaną zdolność wieloliniową, wskazującą na składnik podobny do macierzystego w populacji komórek. Ta właściwość sprawia, że NCM460 jest szczególnie przydatny w badaniach nad różnicowaniem komórek, transportem leków i funkcjami bariery nabłonkowej.

NCM460 został szeroko zastosowany w badaniach koncentrujących się na progresji raka jelita grubego, umożliwiając porównanie normalnych i chorych komórek nabłonkowych. Służy również jako platforma do badania wpływu składników diety, farmaceutyków i innych czynników zewnętrznych na zdrowie i chorobę nabłonka jelita grubego. Ta linia komórkowa oferuje solidne narzędzie do lepszego zrozumienia biologii przewodu pokarmowego na poziomie komórkowym i molekularnym.

Organism Człowiek

Tissue Okrężnica, błona śluzowa

Disease Normalny

Synonyms NCM-460

Charakterystyka

Age 68 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Latynos

Morphology Podobny do nabłonka

Cell type Komórka nabłonkowa

Komórki NCM460 | 305430

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation NCM460 (numer katalogowy Cytion 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Dane biomolekularne

Tumorigenic Nie, testowane na myszach nagich i atymicznych

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzpełnij pożywkę 10% FBS i 1% NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 godzin

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NCM460 | 305430**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCM460 | 305430

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.