

Células NCM460 | 305430**Informações gerais****Description**

A linha celular NCM460 é derivada de células epiteliais normais da mucosa do cólon humano, constituindo um modelo in vitro fundamental para o estudo da fisiologia e patologia intestinais humanas. Esta linha celular foi estabelecida a partir de tecido histologicamente normal isolado durante a cirurgia de um doente com cancro gástrico, especificamente a partir da margem transversal do cólon considerada isenta de alterações malignas. As células NCM460 apresentam características típicas das células epiteliais gastrointestinais, incluindo a expressão de marcadores como a vilina e o componente secretor humano, confirmando a sua origem epitelial. É importante notar que estas células mantêm um fenótipo não tumorigénico, como demonstrado pela sua incapacidade de crescer em ágar mole e pela ausência de formação de tumores em ratinhos nus.

A cultura de células NCM460 requer condições especializadas para suportar o seu crescimento como um sistema misto de suspensão-monocamada, reflectindo diferentes fases de diferenciação epitelial. A presença de células positivas para mucina e a expressão de marcadores neuroendócrinos nalgumas subpopulações sugerem uma capacidade de manutenção de múltiplas linhagens, o que indica a existência de um componente de tipo estaminal na população de células. Esta propriedade torna a NCM460 particularmente útil para estudos sobre diferenciação celular, transporte de fármacos e funções de barreira epitelial.

A NCM460 tem sido amplamente aplicada em investigação centrada na progressão do cancro do cólon, permitindo comparações entre células epiteliais normais e doentes. Serve também como plataforma para investigar os efeitos de componentes dietéticos, produtos farmacêuticos e outros factores externos na saúde e na doença do epitélio do cólon. Esta linha celular oferece uma ferramenta robusta para fazer avançar a nossa compreensão da biologia gastrointestinal a nível celular e molecular.

Organism Humano

Tissue Cólon, mucosa

Disease Normal

Synonyms NCM-460

Caraterísticas

Age 68 anos

Gender Masculino

Ethnicity Hispânico

Morphology De tipo epitelial

Cell type Célula epitelial

Células NCM460 | 305430

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation NCM460 (número de catálogo Cytion 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Dados biomoleculares

Tumorigenic Não, testado em ratinhos nus e ratinhos atímicos

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Suplementar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 horas

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células NCM460 | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCM460 | 305430

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.