

Bunky NCM460 | 305430**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NCM460 je odvodená z normálnych epitelových buniek ľudskej sliznice hrubého čreva a predstavuje dôležitý in vitro model na štúdium fyziológie a patológie ľudskeho čreva. Táto bunková línia bola vytvorená z histologicky normálneho tkaniva izolovaného počas operácie pacienta s rakovinou žalúdka, konkrétne z pričného okraja hrubého čreva považovaného za bez malígnych zmien. Bunky NCM460 vykazujú vlastnosti typické pre epitelové bunky tráviaceho traktu vrátane expresie markerov, ako je villín a ľudská sekrečná zložka, čo potvrdzuje ich epitelový pôvod. Dôležité je, že tieto bunky si zachovávajú nenádorový fenotyp, čo dokazuje ich neschopnosť rásť v mäkkom agare a absencia tvorby nádorov u nahých myší.

Kultivácia buniek NCM460 si vyžaduje špecializované podmienky na podporu ich rastu ako zmiešaného systému suspenznej monovrstvy, ktorý odráža rôzne štádiá epitelovej diferenciácie. Prítomnosť mucín-pozitívnych buniek a expresia neuroendokrinných markerov v niektorých subpopuláciách naznačuje zachovanú multilinéarnu schopnosť, čo naznačuje kmeňovú zložku v bunkovej populácii. Vďaka tejto vlastnosti je NCM460 obzvlášť užitočný na štúdie diferenciácie buniek, transportu liečiv a bariérových funkcií epitelu.

NCM460 sa široko uplatňuje vo výskume zameranom na progresiu rakoviny hrubého čreva, čo umožňuje porovnanie normálnych a chorých epitelových buniek. Služi tiež ako platforma na skúmanie účinkov zložiek stravy, liekov a iných vonkajších faktorov na zdravie a ochorenie epitelu hrubého čreva. Táto bunková línia ponúka spoľahlivý nástroj na zlepšenie nášho chápania gastrointestinálnej biológie na bunkovej a molekulárnej úrovni.

Organism Ľudské**Tissue** Hrubé črevo, sliznica**Disease** Normálne**Synonyms** NCM-460**Charakteristika****Age** 68 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Hispánska**Morphology** Epitelu podobné**Cell type** Epitelová bunka

Bunky NCM460 | 305430

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation NCM460 (katalógové číslo Cytion 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Biomolekulárne údaje

Tumorigenic Nie, testované na nahých myšiach a atýmových myšiach

Spracovanie

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplňte médium 10 % FBS a 1 % NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 hodín

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCM460 | 305430

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.