

Celice NCM460 | 305430

Splošne informacije

Description

Celična linija NCM460 izhaja iz normalnih epitelijskih celic sluznice debelega črevesa in predstavlja pomemben in vitro model za preučevanje fiziologije in patologije človeškega črevesja. Ta celična linija je bila ustvarjena iz histološko normalnega tkiva, izoliranega med operacijo bolnika z rakom želodca, zlasti iz prečnega roba debelega črevesa, ki je veljal za prostega malignih sprememb. Celice NCM460 imajo značilnosti, značilne za epitelijske celice prebavil, vključno z izražanjem označevalcev, kot sta villin in človeška sekretorna komponenta, kar potrjuje njihov epitelijski izvor. Pomembno je, da te celice ohranjajo netumorigen fenotip, kar dokazujeta njihova nezmožnost rasti v mehkem agarju in odsotnost tvorbe tumorjev pri golih miših.

Za gojenje celic NCM460 so potrebni posebni pogoji, ki podpirajo njihovo rast v obliki mešane suspenzije in monoslojnega sistema, ki odraža različne stopnje diferenciacije epitela. Prisotnost mucin pozitivnih celic in izražanje nevroendokrinih označevalcev v nekaterih subpopulacijah kaže na ohranjeno večstopenjsko sposobnost, kar kaže na matično komponento v populaciji celic. Zaradi te lastnosti je NCM460 še posebej uporaben za študije diferenciacije celic, prenosa zdravil in epitelijskih pregradnih funkcij.

NCM460 se pogosto uporablja v raziskavah, ki se osredotočajo na napredovanje raka debelega črevesa, saj omogoča primerjave med normalnimi in bolnimi epitelijskimi celicami. Uporablja se tudi kot platforma za raziskovanje učinkov prehranskih sestavin, farmacevtskih izdelkov in drugih zunanjih dejavnikov na zdravje in bolezen epitelijskega debelega črevesa. Ta celična linija je zanesljivo orodje za boljše razumevanje biologije prebavil na celični in molekularni ravni.

Organism Človek

Tissue Debelo črevo, sluznica

Disease Normalno

Synonyms NCM-460

Značilnosti

Age 68 let

Gender Moški

Ethnicity Hispanika

Morphology Epitelijam podobni

Cell type Epitelijska celica

Celice NCM460 | 305430

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation NCM460 (katalogška številka Cytion 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Biomolekularni podatki

Tumorigenic Ne, testirano na golih miših in athimskih miših

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements Dopolnite medij z 10 % FBS in 1 % NEAA.

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32-38 ur

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Celice NCM460 | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCM460 | 305430

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.