

Клітини NCM460 | 305430

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія NCM460 отримана з нормальних епітеліальних клітин слизової оболонки товстої кишки людини, що забезпечує критично важливу модель *in vitro* для вивчення фізіології та патології кишечника людини. Ця клітинна лінія була створена з гістологічно нормальної тканини, виділеної під час операції у пацієнта з раком шлунка, а саме з поперечного краю товстої кишки, який вважався вільним від злоякісних змін. Клітини NCM460 мають характеристики, характерні для епітеліальних клітин шлунково-кишкового тракту, включаючи експресію таких маркерів, як вілін і людський секреторний компонент, що підтверджує їх епітеліальне походження. Важливо, що ці клітини зберігають непухлинний фенотип, про що свідчить їхня нездатність рости в м'якому агарі та відсутність утворення пухлин у голих мишей.

Культура клітин NCM460 вимагає спеціалізованих умов для підтримки їх росту у вигляді змішаної системи суспензія-моношар, що відображає різні стадії епітеліальної диференціації. Наявність муцин-позитивних клітин та експресія нейроендокринних маркерів у деяких субпопуляціях свідчить про збережену здатність до багатолінійності, що вказує на наявність стовбурового компонента в клітинній популяції. Ця властивість робить NCM460 особливо корисною для досліджень клітинної диференціації, транспорту ліків і бар'єрних функцій епітелію.

NCM460 широко застосовується в дослідженнях прогресування раку товстої кишки, дозволяючи порівнювати нормальні та хворі епітеліальні клітини. Вона також слугує платформою для вивчення впливу компонентів дієти, фармацевтичних препаратів та інших зовнішніх факторів на здоров'я та захворювання епітелію товстої кишки. Ця клітинна лінія пропонує надійний інструмент для поглиблення нашого розуміння біології шлунково-кишкового тракту на клітинному та молекулярному рівнях.

Organism Людина

Tissue Товста кишка, слизова оболонка

Disease Нормально

Synonyms NCM-460

Характеристики

Age 68 років

Gender Чоловік

Ethnicity Латиноамериканець

Morphology Епітеліальноподібні

Cell type Епітеліальна клітина

Клітини NCM460 | 305430

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation NCM460 (номер за каталогом Cytion 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Біомолекулярні дані

Tumorigenic Ні, протестовано на голих мишах та мишах з атимією

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS і 1% NEAA

Dissociation Reagent Аккутаза

Doubling time 32-38 годин

Subculturing Видалить старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини NCM460 | 305430

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NCM460 | 305430

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.