

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

A linhagem celular NCM460 é derivada de células epiteliais normais da mucosa do cólon humano, constituindo um modelo in vitro essencial para o estudo da fisiologia e da patologia intestinal humana. Essa linhagem celular foi estabelecida a partir de tecido histologicamente normal isolado durante uma cirurgia em um paciente com câncer gástrico, especificamente da margem do cólon transverso considerada livre de alterações malignas. As células NCM460 apresentam características típicas das células epiteliais gastrointestinais, incluindo a expressão de marcadores como a vilina e o componente secretório humano, confirmando sua origem epitelial. É importante ressaltar que essas células mantêm um fenótipo não tumorigênico, conforme demonstrado por sua incapacidade de crescer em ágar mole e pela ausência de formação de tumores em camundongos nude.

A cultura das células NCM460 requer condições especializadas para sustentar seu crescimento como um sistema misto de suspensão e monocamada, refletindo diferentes estágios de diferenciação epitelial. A presença de células positivas para mucina e a expressão de marcadores neuroendócrinos em algumas subpopulações sugerem uma capacidade multilinhagem preservada, indicativa de um componente semelhante a células-tronco dentro da população celular. Essa propriedade torna as células NCM460 particularmente úteis para estudos sobre diferenciação celular, transporte de fármacos e funções da barreira epitelial.

A NCM460 tem sido amplamente utilizada em pesquisas com foco na progressão do câncer de cólon, permitindo comparações entre células epiteliais normais e doentes. Ela também serve como plataforma para investigar os efeitos de componentes alimentares, medicamentos e outros fatores externos na saúde e nas doenças do epitélio do cólon. Essa linhagem celular oferece uma ferramenta robusta para aprofundar nossa compreensão da biologia gastrointestinal nos níveis celular e molecular.

Organism Humano

Tissue Cólon, mucosa

Disease Normal

Synonyms NCM-460

Características

Age 68 anos

Gender Masculino

Ethnicity hispânico

Morphology De tipo epitelial

Cell type Célula epitelial

Células NCM460 | 305430

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation NCM460 (número de catálogo da Cytion 305430)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0460

Dados biomoleculares

Tumorigenic Não, testado em camundongos nude e camundongos atímicos

Manuseio

Culture Medium DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Supplements Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 32 a 38 horas

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

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

Células NCM460 | 305430

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a $300 \times g$ por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% de CO_2 , atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células NCM460 | 305430

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.