

Клетки COLO-320 | 305315

Обща информация

Description

COLO-320 е клетъчна линия от човешки колоректален аденокарцином, получена от метастатичен тумор. Тя се използва широко в научните изследвания за изучаване на биологията на колоректалния рак, механизмите на лекарствена резистентност и ефектите на противораковите средства. Клетките COLO-320 се характеризират със свръхекспресия на различни онкогени, като например c-тус, за който е известно, че стимулира клетъчната пролиферация. Тази клетъчна линия служи и като модел за изследване на ролята на епигенетичните модификации в прогресията на рака, тъй като в нея често се наблюдават аномалии в метилирането на ДНК и ацетилирането на хистоните, които влияят върху експресията на ключови тумор-супресорни гени и регулатори на клетъчния цикъл.

Изследванията върху COLO-320 са показали, че състоянието на метилиране на промотора на CDKN2A (p16) е критичен фактор в регулацията на този туморен супресор, който отговаря за инхибирането на прехода от фаза G1 към фаза S в клетъчния цикъл. Доказано е, че лечението с инхибитори на ДНК-метилтрансферазата, като 5-аза-2'-дезоксцитидин (5-аза-dC), деметилира промотора на CDKN2A, възстановява генната експресия и потенциално предизвиква спиране на растежа. Освен това инхибиторите на хистоновите деацетилази (HDACis), като трихостатин А (TSA), могат да модулират нивата на ацетилиране на хистоните, като повлияват експресията на други гени, включително p21WAF1. Проучванията обаче показват, че ацетилирането на хистоните оказва специфично влияние върху p21WAF1, без да засяга значително хистоните, свързани с CDKN2A, което предполага диференциална епигенетична регулация.

Друга област на изследванията се фокусира върху ролята на COLO-320 в мултилекарствената резистентност (MDR). Клетъчната линия е била използвана за оценка на ефикасността на различни MDR модулатори. Например, производните на фенотиазина са показали способност да инхибират активността на Р-гликопротеина (P-gp) – протеин, който често се свръхекспресира в клетките на COLO-320 и изпомпва химиотерапевтичните лекарства, като по този начин намалява тяхната вътреклетъчна концентрация и ефикасност. В проучванията е използвана проточна цитометрия с тестове за ефлукс с родамин 123, за да се количествено определи ефективността на тези съединения при обратното въздействие върху MDR, като по този начин се осигурява информация за потенциални стратегии за преодоляване на лекарствената резистентност при колоректален рак.

Organism

Човек

Tissue

Дебело черво

Disease

Аденокарцином

Synonyms

Colo-320, Colo 320, COLO #320, COLO320, Colo320, CoLo320, Co320, COLO 320F, Colorado 320, COLO 320

Характеристики

Age

55 години

Gender

Жена

Клетки COLO-320 | 305315

Ethnicity Кавказки**Growth properties** Свободно прилепнали и във въздушната среда

Регулаторни данни

Citation COLO-320 (каталожен номер на Cytion 305315)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1989

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: TP53, p.Arg248Trp (с.742C>T)

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2 - 4 \times 10^4$ клетки/см²**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки COLO-320 | 305315**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки COLO-320 | 305315

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.