

Buňky COLO-320 | 305315

Obecné informace

Description

COLO-320 je lidská buněčná linie adenokarcinomu tlustého střeva a konečníku odvozená z metastatického nádoru. Je široce využívána ve výzkumu k studiu biologie kolorektálního karcinomu, mechanismů lékové rezistence a účinků protinádorových látek. Buňky COLO-320 se vyznačují nadměrnou expresí různých onkogenů, jako je například c-myc, o kterém je známo, že stimuluje buněčnou proliferaci. Tato buněčná linie slouží také jako model pro zkoumání role epigenetických modifikací v progresi rakoviny, protože vykazuje časté abnormality v metylaci DNA a acetylaci histonů, které ovlivňují expresi klíčových tumor supresorových genů a regulátorů buněčného cyklu.

Výzkum na buněčné linii COLO-320 odhalil, že stav metylace promotoru CDKN2A (p16) je klíčovým faktorem v regulaci tohoto tumor supresorového genu, který je zodpovědný za inhibici přechodu z fáze G1 do fáze S v buněčném cyklu. Ukázalo se, že léčba inhibitory DNA-metyltransferázy, jako je 5-aza-2'-deoxycytidin (5-aza-dC), demethylaci promotoru CDKN2A, čímž obnovuje genovou expresi a potenciálně indukuje zastavení růstu. Kromě toho mohou inhibitory histonových deacetyláz (HDACi), jako je trichostatin A (TSA), modulovat úroveň acetylace histonů, čímž ovlivňují expresi dalších genů, včetně p21WAF1. Studie však naznačují, že acetylace histonů specificky ovlivňuje p21WAF1, aniž by významně ovlivňovala histony asociované s CDKN2A, což naznačuje diferenciální epigenetickou regulaci.

Další oblast výzkumu se zaměřuje na roli buněčné linie COLO-320 v multirezistenci vůči lékům (MDR). Tato buněčná linie byla použita k hodnocení účinnosti různých modulátorů MDR. Deriváty fenothiazinu například prokázaly schopnost inhibovat aktivitu P-glykoproteinu (P-gp), což je protein často nadměrně exprimovaný v buňkách COLO-320, který vylučuje chemoterapeutická léčiva, čímž snižuje jejich intracelulární koncentraci a účinnost. Ve studiích byla využita průtoková cytometrie s testy efluxu rhodaminu 123 k kvantifikaci účinnosti těchto sloučenin při zvrácení MDR, což poskytlo poznatky o potenciálních strategiích k překonání lékové rezistence u kolorektálního karcinomu.

Organism Člověk**Tissue** Střeva**Disease** Adenokarcinom**Synonyms** Colo-320, Colo 320, COLO #320, COLO320, Colo320, CoLo320, Co320, COLO 320F, Colorado 320, COLO 320

Charakteristika

Age 55 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Kavkazský

Buňky COLO-320 | 305315

Growth properties

Volně přilnuté a v suspenzi

Regulační údaje

Citation COLO-320 (katalogové číslo Cytion 305315)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1989

Biomolekulární data

Mutational profile Mutace: TP53, p.Arg248Trp (c.742C>T)

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

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

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky COLO-320 | 305315

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolování.