

Buňky Colo-60H | 300456**Obecné informace****Description**

Buněčná linie COLO-60H byla odvozena z bioptického vzorku odebraného z neléčeného adenokarcinomu u muže. Tato buněčná linie byla založena v roce 1998 a je zvláště zajímavá pro výzkum rakoviny, protože pochází z kolorektálního karcinomu, což je častá a často smrtelná forma rakoviny, která vzniká ve sliznici tlustého střeva nebo konečníku. Samotné adenokarcinomy se vyznačují žláзовým původem nádorových buněk, což může umožnit nahlédnout do buněčných procesů, jako je vylučování a vstřebávání, které jsou během vývoje rakoviny narušeny.

Buňky COLO-60H vykazují alelu HLA-A*0201, což z nich činí cenný model pro imunologické studie, zejména v kontextu nádorové imunologie. Přítomnost tohoto specifického typu lidského leukocytárního antigenu (HLA) je klíčová pro prezentaci antigenů T-lymfocytům, což ovlivňuje schopnost imunitního systému rozpoznat a zničit nádorové buňky. Tato vlastnost podporuje použití COLO-60H při hodnocení účinnosti imunoterapeutických látek a při studiu interakcí mezi nádorovými buňkami a imunitním systémem v histokompatibilním prostředí. Význam této buněčné linie se rozšiřuje i na farmakologický výzkum, kde ji lze využít k hodnocení reakcí na léčiva a zkoumání mechanismů rezistence, které jsou zásadní pro rozvoj personalizované medicíny pro léčbu kolorektálního karcinomu.

Organism

Člověk

Tissue

Colon transversum

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

COLO-60H, COLO 60H, COLO60H

Charakteristika**Age**

73 let

Gender

Muži

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje**Citation**

COLO-60H (katalogové číslo Cytion 300456)

Biosafety level

1

Buňky Colo-60H | 300456

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4572

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3

Seeding density Doporučuje se 1×10^4 buněk/cm².

Fluid renewal Každých 3 až 5 dní

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

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-60H | 300456**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 odstředujte 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 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

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.

**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.

Buňky Colo-60H | 300456**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**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 vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y

CSF1PO: 11,15

D13S317: 11

D16S539: 9,13

D5S818: 9,16

D7S820: 7,3,10

TH01: 6,9,3

TPOX: 7,10

vWA: 15,16,17,19

D3S1358: 15,16,17

D21S11: 29,33,2

D18S51: 13,15

D8S1179: 11

FGA: 21,24

D2S1338: 21,24

D19S433: 12,13

Alely HLA

A*: '01:01:01, '02:01:01

B*: '50:01:01, '51:01:01

C*: '06:02:01, '16:01:01

DRB1*: '07:01:01, '08:01:01G

DQA1*: '02:01:01, '04:01:01

DQB1*: '02:02:01, '04:02:01

DPB1*: '05:01:01, '20:01:01

E: '01:01:01