

COLO-320 rakud | 305315

Üldine teave

Description

COLO-320 on metastaatilise kasvaja saadud inimese kolorektaalse adenokartsinoomi rakuliin. Seda kasutatakse laialdaselt teadusuuringutes kolorektaalse vähi bioloogia, ravimresistentsuse mehhanismide ja vähivastaste ravimite toime uurimiseks. COLO-320 rakke iseloomustab mitmesuguste onkogeenide, näiteks c-myc, üleväljendamine, millest on teada, et see soodustab rakkude proliferatsiooni. See rakuliin on ka mudel epigeneetiliste modifikatsioonide rolli uurimiseks vähi progresseerumisel, kuna selles esineb sageli DNA metülatsiooni ja histoonide atsetüülimise kõrvalekaldeid, mis mõjutavad peamiste kasvajakavastaste geenide ja rakutsükli regulaatorite ekspressiooni.

COLO-320-ga seotud uuringud on näidanud, et CDKN2A (p16) promootori metülatsiooniseisund on otsustav tegur selle kasvajakavastase geeni regulatsioonis, mis vastutab rakutsükli G1/S-faasi ülemineku pärssimise eest. On näidatud, et ravi DNA-metüültransferaasi inhibiitoritega, nagu 5-aza-2'-desoksütidiin (5-aza-dC), demetüleerib CDKN2A promootorit, taastades geeni ekspressiooni ja potentsiaalselt indutseerides kasvu peatumist. Lisaks võivad histooni deatsetülaasi inhibiitorid (HDACi-d), nagu trikostaatiin A (TSA), moduleerida histoonide atsetüülimise taset, mõjutades teiste geenide, sealhulgas p21WAF1, ekspressiooni. Uuringud on siiski näidanud, et histoonide atsetüülimine mõjutab spetsiifiliselt p21WAF1-i, ilma et see avaldaks märkimisväärset mõju CDKN2A-ga seotud histoonidele, mis viitab diferentseeritud epigeneetilisele regulatsioonile.

Teine uurimisvaldkond keskendub COLO-320 rollile mitmeravimresistentsuses (MDR). Seda rakuliini on kasutatud mitmesuguste MDR-modulaatorite tõhususe hindamiseks. Näiteks on fenotiasiini derivaadid näidanud võimet pärssida P-glükoproteiini (P-gp) aktiivsust – see on valk, mida COLO-320 rakkudes sageli üleväljendatakse ja mis pumpab kemoterapiavahendeid rakust välja, vähendades seeläbi nende rakusisest kontsentratsiooni ja tõhusust. Uuringutes on kasutatud voolutsütomeetria koos rodamiin 123 väljavoolu testidega, et kvantifitseerida nende ühendite efektiivsust MDR-i pöördumisel, andes ülevaate potentsiaalsetest strateegiatest ravimresistentsuse ületamiseks kolorektaalvähi puhul.

Organism

Inimene

Tissue

Colon

Disease

Adenokartsinoom

Synonyms

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

Omadused

Age

55 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

COLO-320 rakud | 305315

Growth properties

Lõdvalt kinnitunud ja suspensioonis

Regulatiivsed andmed**Citation** COLO-320 (Cytioni katalooginumber 305315)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1989**Biomolekulaarsed andmed****Mutational profile** Mutatsioon: TP53, p.Arg248Trp (c.742C>T)**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

COLO-320 rakud | 305315

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

COLO-320 rakud | 305315

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.