

COLO-320-solut | 305315

Yleisiä tietoja

Description

COLO-320 on metastaattisesta kasvaimesta peräisin oleva ihmisen paksusuolen ja peräsuolen adenokarsinooman solulinja. Sitä käytetään laajasti tutkimuksessa paksusuolen ja peräsuolen syövän biologian, lääkeresistenssimekanismien sekä syöpälääkkeiden vaikutusten selvittämiseen. COLO-320-soluille on ominaista erilaisten onkogeenien, kuten solujen lisääntymistä edistävän c-myc-geenin, yli-ilmentyminen. Tämä solulinja toimii myös mallina, jolla tutkitaan epigeneettisten muutosten roolia syövän etenemisessä, sillä siinä esiintyy usein DNA:n metylaatio- ja histoniasetylaatiohäiriöitä, jotka vaikuttavat keskeisten kasvainten estäjägeenien ja solusyklin säätelijöiden ilmentymiseen.

COLO-320-solulinjaa koskevat tutkimukset ovat paljastaneet, että CDKN2A (p16)-promootorin metylaatiotila on kriittinen tekijä tämän tuumorisuppressorin säätelyssä; geeni vastaa solusyklin G1/S-vaiheen siirtymän estämisestä. 5-aza-2'-deoksisytydiiniin (5-aza-dC) kaltaisten DNA-metyylitransferaasi-inhibiittoreiden on osoitettu demetyloivan CDKN2A-promootoria, palauttavan geenin ilmentymisen ja mahdollisesti indusoivan kasvun pysähtymisen. Lisäksi histonideasetylaasi-inhibiittorit (HDAC-inhibiittorit), kuten trikostatiini A (TSA), voivat säätää histonien asetyloitintoja, mikä vaikuttaa muiden geenien, kuten p21WAF1:n, ilmentymiseen. Tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että histoniasetylaatio vaikuttaa nimenomaan p21WAF1:een ilman, että se vaikuttaisi merkittävästi CDKN2A:han liittyviin histoneihin, mikä viittaa erilaiseen epigeneettiseen säätelyyn.

Toinen tutkimusalue keskittyy COLO-320-solulinjan rooliin monilääkeresistenssissä (MDR). Solulinjaa on käytetty erilaisten MDR-modulaattoreiden tehokkuuden arviointiin. Esimerkiksi fenotiatsiinijohdannaisilla on osoitettu kykyä estää P-glykoproteiinin (P-gp) toimintaa; kyseessä on proteiini, jota ilmentyy usein liikaa COLO-320-soluissa ja joka pumppaa kemoterapeuttisia lääkkeitä ulos soluista, mikä alentaa niiden solunsisäistä pitoisuutta ja tehokkuutta. Tutkimuksissa on hyödynnetty virtausmittometriaa ja rodamiini 123:n effluksimäärityksiä näiden yhdisteiden tehokkuuden kvantifoimiseksi monilääkeresistenssin kumoamisessa, mikä on tarjonnut näkemyksiä mahdollisista strategioista kolorektaalisyövän lääkeresistenssin voittamiseksi.

Organism

Ihminen

Tissue

Paksusuoli

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

55 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

COLO-320-solut | 305315

Growth properties

Löyhästi kiinnittyneet ja suspensiossa olevat

Säätelytiedot

Citation COLO-320 (Cytionin tuotenumero 305315)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1989

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

COLO-320-solut | 305315

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

COLO-320-solut | 305315

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.