Product sheet

Colo-94H ląstelės | 300161

Bendra informacija

Description	COLO-94H ląstelių linija yra žmogaus storosios žarnos adenokarcinomos ląstelių linija, gauta iš suaugusio paciento metastazių vietos. Šios ląstelės yra epitelinės ir pasižymi storosios žarnos vėžiui būdingomis savybėmis, todėl yra vertingos vėžio biologijos, vaistų kūrimo ir metastazavimo mechanizmų tyrimams. COLO-94H ląstelės auga prigludusios ir sudaro monosluoksnį, kuris būdingas epitelinėms ląstelėms kultūroje. Jos pasižymi dideliu genetiniu ir fenotipiniu stabilumu, todėl galima atkurti rezultatus įvairiose eksperimentinėse sistemose. Mokslininkai naudoja COLO-94H ląstelių liniją, kad ištirtų molekulinius ir ląstelinius kelius, susijusius su storosios žarnos vėžio progresavimu ir metastazėmis. Tai apima onkogenų, naviko slopintojų genų ir signalinių kelių, tokių kaip Wnt, Notch ir PI3K/AKT, poveikio tyrimus. Be to, COLO-94H ląstelės naudojamos naujų chemoterapinių preparatų ir tikslinių gydymo metodų veiksmingumui ir toksiškumui įvertinti, nes tai yra patikimas in vitro modelis ikiklinikiniams bandymams. Dėl jų metastazinės kilmės jos taip pat tinka vėžio ląstelių plitimo ir antrinių vietų kolonizacijos mechanizmų tyrimams.
Organism	Žmogus
Tissue	Storosios žarnos
Disease	Adenokarcinoma
Synonyms	COLO-94H, COLO 94H, COLO94H

Charakteristikos

Age	70 metų
Gender	Vyras
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	COLO-94H (Cytion katalogo numeris 300161)
Biosafety level	1

Colo-94H ląstelės | 300161

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4573

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic	Taip, su nuogomis pelėmis
Reverse transcriptase	Neigiamas
Products	Citokeratinas 8, 18, 19
Mutational profile	COLO-94H ląstelės turi Kras geno 12 kodono mutaciją: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	1-2 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Colo-94H ląstelės | 300161

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Colo-94H ląstelės | 300161

Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
HLA aleliai	**A***: '02:01:01 **B***: '15:01:01 **C***: '03:04:01 **DRB1***: '04:01:01 **DQA1***: '03:01:01 **DQB1***: '03:02:01 **DPB1***: '04:02:01 **E**: '01:03:02