Product sheet

Colo-94H šūnas | 300161

Vispārīga informācija

Description	COLO-94H šūnu līnija ir cilvēka kolorektālās adenokarcinomas šūnu līnija, kas iegūta no metastātiskas vietas pieaugušam pacientam. Šīm šūnām ir epitēlija raksturs, un tām piemīt kolorektālajam vēzim raksturīgas īpašības, tāpēc tās ir vērtīgas pētījumiem, kas vērsti uz vēža bioloģiju, zāļu izstrādi un metastāzes mehānismiem. COLO-94H šūnas aug adherenti un veido monoslāni, kas raksturīgs epitēlija šūnām kultūrā. Tām piemīt augsta ģenētiskā un fenotipiskā stabilitāte, kas ļauj iegūt reproducējamus rezultātus dažādās eksperimentālajās iekārtās. Pētnieki izmanto COLO-94H šūnu līniju, lai pētītu molekulāros un šūnu ceļus, kas saistīti ar kolorektālā vēža progresēšanu un metastāzēm. Tas ietver onkogēnu, audzēju nomācošo gēnu un tādu signalizācijas ceļu kā Wnt, Notch un PI3K/AKT ietekmes izpēti. Turklāt COLO-94H šūnas tiek izmantotas, lai novērtētu jaunu ķīmijterapeitisko līdzekļu un mērķterapiju efektivitāti un toksicitāti, nodrošinot uzticamu in vitro modeli pirmsklīniskajiem testiem. Tās ir metastātiskas izcelsmes šūnas, tāpēc tās ir piemērotas arī vēža šūnu izplatīšanās un sekundāro vietu kolonizācijas mehānismu izpētei.
Organism	Cilvēks
Tissue	Resnās zarnas
Disease	Adenokarcinoma
Synonyms	COLO-94H, COLO 94H, COLO94H

Raksturojums

Age	70 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	COLO-94H (Cytion kataloga numurs 300161)
Biosafety level	1

Colo-94H šūnas | 300161

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4573

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā, kailām pelēm
Reverse transcriptase	Negatīvs
Products	Citokeratīns 8, 18, 19
Mutational profile	COLO-94H šūnām ir mutācija Kras gēna 12. kodonā: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	1 līdz 2 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Colo-94H šūnas | 300161

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Colo-94H šūnas | 300161

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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