

COLO-320-celler | 305315

Generell informasjon

Description

COLO-320 er en human cellelinje fra kolorektalt adenokarsinom, avledet fra en metastatisk svulst. Den brukes i stor utstrekning i forskning for å studere biologien bak kolorektal kreft, mekanismer for legemiddelresistens og virkningen av kreftmedisiner. COLO-320-cellene er preget av overekspresjon av ulike onkogener, som for eksempel c-myc, som er kjent for å fremme celleproliferasjon. Denne cellelinjen er også en modell for å undersøke rollen til epigenetiske modifikasjoner i kreftprogresjon, da den viser hyppige abnormiteter i DNA-metylering og histonacetylering som påvirker uttrykket av viktige tumorsuppressorgener og cellecyklusregulatorer.

Forskning på COLO-320 har avdekket at metyleringsstatusen til CDKN2A (p16)-promotoren er en avgjørende faktor i reguleringen av dette tumorsuppressorgenet, som er ansvarlig for å hemme overgangen fra G1- til S-fasen i cellesyklusen. Behandling med DNA-metyltransferasehemmere som 5-aza-2'-deoksyctidin (5-aza-dC) har vist seg å demetilere CDKN2A-promotoren, gjenopprette genuttrykket og potensielt indusere vekststans. Videre kan histondeacetylasehemmere (HDAC-hemmere) som trichostatin A (TSA) modulere histonacetylasjonsnivåene og dermed påvirke uttrykket av andre gener, inkludert p21WAF1. Studier har imidlertid vist at histonacetylering spesifikt påvirker p21WAF1 uten å ha noen betydelig innvirkning på CDKN2A-assosierte histoner, noe som tyder på differensiert epigenetisk regulering.

Et annet forskningsområde fokuserer på COLO-320s rolle i multiresistens (MDR). Cellelinjen har blitt brukt til å evaluere effekten av ulike MDR-modulatorer. Fenotiazinderivater har for eksempel vist seg å kunne hemme aktiviteten til P-glykoprotein (P-gp), et protein som ofte er overekspresert i COLO-320-celler og som pumper ut kjemoterapeutiske legemidler, og dermed reduserer deres intracellulære konsentrasjon og effekt. I studiene har man benyttet strømningscytometri med rhodamin 123-effluksanalyser for å kvantifisere hvor effektive disse forbindelsene er til å reversere MDR, noe som gir innsikt i potensielle strategier for å overvinne legemiddelresistens ved tykktarmskreft.

Organism

Menneskelig

Tissue

Colon

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

55 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

COLO-320-celler | 305315

Growth properties

Løst sammenklumpet og i suspensjon

Regulatoriske data

Citation COLO-320 (Cytion-katalognummer 305315)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1989

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4 \text{ cell}^{\text{er}}/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

COLO-320-celler | 305315

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekyllær analyse

COLO-320-celler | 305315

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.