

Komórki COLO-320 | 305315**Informacje ogólne****Description**

COLO-320 to ludzka linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego, wyhodowana z guza z przerzutami. Jest ona szeroko wykorzystywana w badaniach nad biologią raka jelita grubego, mechanizmami oporności na leki oraz działaniem środków przeciwnowotworowych. Komórki COLO-320 charakteryzują się nadekspresją różnych onkogenów, takich jak c-myc, o którym wiadomo, że stymuluje proliferację komórek. Linia ta stanowi również model do badania roli modyfikacji epigenetycznych w progresji nowotworu, ponieważ wykazuje częste nieprawidłowości w metylacji DNA i acetylacji histonów, które wpływają na ekspresję kluczowych genów supresorowych nowotworów oraz regulatorów cyklu komórkowego.

Badania nad linią COLO-320 wykazały, że status metylacji promotora CDKN2A (p16) jest kluczowym czynnikiem w regulacji tego genu supresorowego nowotworów, odpowiedzialnego za hamowanie przejścia z fazy G1 do fazy S w cyklu komórkowym. Wykazano, że leczenie inhibitorami metylotransferazy DNA, takimi jak 5-aza-2'-deoksycytidyna (5-aza-dC), powoduje demetylację promotora CDKN2A, przywracając ekspresję genu i potencjalnie indukując zatrzymanie wzrostu. Ponadto inhibitory deacetylazy histonowej (HDACi), takie jak trichostatyna A (TSA), mogą modulować poziomy acetylacji histonów, wpływając na ekspresję innych genów, w tym p21WAF1. Jednak badania wykazały, że acetylacja histonów wpływa specyficznie na p21WAF1, nie wywierając znaczącego wpływu na histony związane z CDKN2A, co sugeruje zróżnicowaną regulację epigenetyczną.

Kolejny obszar badań skupia się na roli linii komórkowej COLO-320 w oporności wielolekowej (MDR). Linia ta została wykorzystana do oceny skuteczności różnych modulatorów MDR. Na przykład pochodne fenotiazyny wykazały zdolność do hamowania aktywności P-glikoproteiny (P-gp) – białka często nadekspresjonowanego w komórkach COLO-320, które wypompowuje leki chemioterapeutyczne, zmniejszając w ten sposób ich stężenie wewnątrzkomórkowe i skuteczność. W badaniach wykorzystano cytometrię przepływową w połączeniu z testami wypływu rodaminy 123 w celu ilościowego określenia skuteczności tych związków w odwracaniu MDR, co dostarczyło informacji na temat potencjalnych strategii przezwycięzania oporności na leki w raku jelita grubego.

Organism

Człowiek

Tissue

Colon

Disease

Gruczolakorak

Synonyms

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

Charakterystyka**Age**

55 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Komórki COLO-320 | 305315

Growth properties

Luźno przylegające i zawieszone

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki COLO-320 | 305315

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolkę w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki COLO-320 | 305315

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.