

**Komórki Colo-680N | 300464****Informacje ogólne****Description**

COLO-680N to ludzka linia komórkowa raka płaskonabłonkowego przetyku uzyskana z biopsji guza 58-letniej kobiety w 1985 roku. Ta derywacja była wyjątkowa, ponieważ obejmowała przejście przez nagą mysz, metodę stosowaną w celu zwiększenia wzrostu komórek nowotworowych i adaptacji in vitro poprzez wykorzystanie odporności myszy. Proces ten potencjalnie selekcjonuje bardziej agresywne i klinicznie istotne komórki nowotworowe, dzięki czemu COLO-680N jest szczególnie cenny do badania skomplikowanej biologii raka płaskonabłonkowego przetyku, głównego podtypu raka przetyku.

**Organism**

Człowiek

**Tissue**

Przetyk

**Disease**

Rak płaskonabłonkowy

**Applications**

Ekspresja BMP-6 może być wykorzystywana jako współwskaźnik rokowania w raku płaskonabłonkowym przetyku. Platforma in vitro do długoterminowej hodowli *Cryptosporidium parvum*

**Synonyms**

COLO 680N, COLO #680N, COLO680N, Colorado 680N

**Charakterystyka****Age**

57 lat

**Gender**

Kobieta

**Ethnicity**

Afrykański

**Morphology**

Podobny do nabłonka

**Growth properties**

Monowarstwa, przylegająca

**Dane regulacyjne****Citation**

COLO-680N (numer katalogowy Cytion 300464)

**Biosafety level**

1

**NCBI\_TaxID**

9606

**Komórki Colo-680N | 300464**

CellosaurusAccession CVCL\_1131

**Dane biomolekularne****Protein expression** BMP-6**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 60 godzin**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:4**Seeding density**  $2 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 do 5 dni.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.**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-680N | 300464****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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 zawieszonych, 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki Colo-680N | 300464****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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage  
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 13  
**D16S539:** 11,12  
**D5S818:** 11  
**D7S820:** 10,12  
**TH01:** 8  
**TPOX:** 6  
**vWA:** 17,18  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 27  
**D18S51:** 19  
**Penta E:** 7,8  
**Penta D:** 12  
**D8S1179:** 14,15  
**FGA:** 18.2

**Allele HLA**

**A\*:** '02:01:01, '30:02:01  
**B\*:** '15:16:01, '57:01:01  
**C\*:** '06:02:01, '14:02:01  
**DRB1\*:** '07:01:01, '11:01:02  
**DQA1\*:** '01:01:02, '02:01:01  
**DQB1\*:** '03:03:02, '05:01:01  
**DPB1\*:** '01:01:02, '04:01:01  
**E:** '01:01:01