

Ogniwa Colo-320DM | 300153**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa COLO-320DM jest ludzką linią komórkową gruczolakoraka jelita grubego utworzoną z przerzutów 55-letniej kobiety rasy kaukaskiej. Ta linia komórkowa wykazuje unikalne cechy, które są istotne dla badania przerzutów raka jelita grubego i działania środków chemioterapeutycznych. Na uwagę zasługuje wysoka ekspresja antygenu rakowo-płodowego (CEA), cennego biomarkera stosowanego w monitorowaniu i diagnostyce raka jelita grubego.

Komórki COLO-320DM są przylegające i mają morfologię podobną do nabłonka. Są one często wykorzystywane w badaniach koncentrujących się na mechanizmach komórkowych i molekularnych leżących u podstaw progresji raka jelita grubego i przerzutów. Ponadto, ze względu na ich spójne wzorce wzrostu i stabilność genetyczną w kolejnych pasażach, służą one jako wiarygodny model do eksperymentów in vitro badających biologię komórek nowotworowych, odpowiedź na leki i ekspresję genów związanych z rakiem jelita grubego.

Komórki te są również szczególnie interesujące dla badań genetycznych, zwłaszcza tych związanych ze szlakami zaangażowanymi w przerzuty i odpowiedź na chemioterapię. Naukowcy wykorzystują COLO-320DM do badania szlaków sygnałowych, odpowiedzi komórkowej na niedotlenienie oraz interakcji między komórkami nowotworowymi a mikrośrodowiskiem guza. Linia komórkowa odegrała kluczową rolę w rozwoju strategii terapeutycznych ukierunkowanych na mechanizmy przerzutowe specyficzne dla raka jelita grubego.

Organism

Człowiek

Tissue

Okrężnica, typ C wg Dukesa

Disease

Gruczolakorak jelita grubego

Synonyms

COLO_320DM, COLO-320-DM, COLO #320DM, COLO320/DM, COLO320-DM, COLO320DM, Colo320DM, COLO320 DM, COLO 320 DM, COLO 320 (DM), Colorado 320 Double Minutes

Charakterystyka**Age**

55 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Zaokrąglone i załamujące światło

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Ogniwa Colo-320DM | 300153**Citation** COLO-320DM (numer katalogowy Cytion 300153)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0219**Dane biomolekularne****Isoenzymes** PGM1,1, PGM3, 2, G6PD, B, PEP-D, 1, 6PGD, A, ES-D, 1**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Products** Serotonina, noradrenalina, epinefryna, hormon adrenokortykotropowy (ACTH), hormon przytarczyc**Obsługa****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogromianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820600a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:3**Seeding density** 1×10^4 kom^{órek}/cm²**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Ogniwa Colo-320DM | 300153**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.

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.

Flask Coating

Brak

Ogniwa Colo-320DM | 300153**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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 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.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11
D13S317: 11
D16S539: 11,12
D5S818: 12
D7S820: 9,12
TH01: 9
TPOX: 8,9
vWA: 15,18
D3S1358: 17
D21S11: 33.2
D18S51: 15
Penta E: 11
Penta D: 9,12
D8S1179: 13
FGA: 20
PEZ6: BT-549