

Células Colo-94H | 300161**Informações gerais****Description**

A linha de células COLO-94H é uma linha de células de adenocarcinoma colorrectal humano derivada de um local metastático de um doente adulto. Estas células são de natureza epitelial e apresentam características típicas do cancro colorrectal, o que as torna valiosas para estudos centrados na biologia do cancro, no desenvolvimento de medicamentos e nos mecanismos metastáticos. As células COLO-94H crescem de forma aderente e formam uma monocamada, o que é típico das células epiteliais em cultura. Possuem um elevado grau de estabilidade genética e fenotípica, permitindo a obtenção de resultados reprodutíveis em várias configurações experimentais.

Os investigadores utilizam a linha celular COLO-94H para investigar as vias moleculares e celulares envolvidas na progressão e metástase do cancro colorrectal. Isto inclui o estudo dos efeitos de oncogenes, genes supressores de tumores e vias de sinalização como Wnt, Notch e PI3K/AKT. Além disso, as células COLO-94H são utilizadas para avaliar a eficácia e a toxicidade de novos agentes quimioterapêuticos e de terapias direcionadas, proporcionando um modelo in vitro fiável para testes pré-clínicos. A sua origem metastática também as torna adequadas para a investigação dos mecanismos de disseminação das células cancerosas e de colonização de locais secundários.

Organism Humano**Tissue** Cólon**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** COLO-94H, COLO 94H, COLO94H**Caraterísticas****Age** 70 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** COLO-94H (número de catálogo Cytion 300161)

Células Colo-94H | 300161**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4573**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Reverse transcriptase** Negativo**Products** Citoqueratina 8, 18, 19**Mutational profile** As células COLO-94H são portadoras de uma mutação no códon 12 do gene Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 1 a 2 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Células Colo-94H | 300161

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células Colo-94H | 300161

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos HLA

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