

Клетки RKO-E6 | 305135

Обща информация

Description Клетките RKO-E6 са човешка клетъчна линия на колоректален карцином, получена от клетъчната линия RKO чрез допълнителна мутагенеза. Тези клетки често се използват в изследванията на рака, особено с акцент върху колоректалния рак. Вариантът E6 на линията RKO предлага отличителен профил, който е полезен за изследване на ефектите от специфични генетични манипулации и за изучаване на молекулярните механизми на туморогенезата и метастазите при колоректалния рак. Клетките RKO-E6 се характеризират с няколко уникални характеристики, включително промени в гени, свързани с регулирането на клетъчния цикъл, апоптозата и пътищата за възстановяване на ДНК. Тези модификации повишават полезността на клетъчната линия за изследване на биологичните ефекти от заглушаването или свръхекспресията на гени в контекста на колоректалния рак. Например клетките RKO-E6 са използвани за изследване на влиянието на тумор супресорните гени и онкогените върху поведението на раковите клетки, включително пролиферацията, инвазията и резистентността към химиотерапевтични агенти. Освен това клетките RKO-E6 са полезни при изследвания, насочени към разбиране на клетъчните реакции към стресовите фактори на околната среда, като оксидативен стрес и ДНК-увреждащи агенти, които са от значение за патогенезата и прогресията на колоректалния рак. Техните стабилни характеристики на растеж и генетична стабилност ги превръщат в ценен модел за високопроизводителни скринингови тестове за оценка на ефикасността на нови противоракови съединения. В обобщение, клетките RKO-E6 предоставят важен модел за разширяване на познанията ни за биологията на колоректалния рак и за разработване и тестване на нови терапевтични стратегии, насочени към това широко разпространено и често смъртоносно заболяване.

Organism Човек

Tissue Дебело черво

Disease Карцином на дебелото черво

Synonyms RKOЕ6

Характеристики

Morphology Епителиален

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation RKO-E6 (каталожен номер 305135 на Cytion)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Клетки RKO-E6 | 305135

CellosaurusAccession CVCL_3787

GMO Status

GMO-S1: Тази клетъчна линия на човешки колоректален карцином (RKO-E6) съдържа плазмид, кодиращ HPV-16 E6 под контрола на CMV промотор, евентуално включващ CMV и HPV-6 последователности, което позволява провеждането на изследвания за E6-зависима трансформация. Конструкцията е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни**Работа с****Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)**Supplements**

Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal

2 до 3 пъти седмично

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки RKO-E6 | 305135

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки RKO-E6 | 305135

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.