

## RKO-E6 rakud | 305135

## Üldine teave

**Description** RKO-E6 rakud on inimese kolorektaalkartsinoomi rakuliin, mis on saadud RKO rakuliinist täiendava mutageneesi teel. Neid rakke kasutatakse tavaliselt vähiuuringutes, keskendudes eelkõige kolorektaalvähile. RKO rakuliini E6 variant pakub eripärast profiili, mis on kasulik konkreetsete geneetiliste manipulatsioonide mõju uurimiseks ning kolorektaalvahi kasvajate tekke ja metastaaside molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. RKO-E6 rakke iseloomustavad mitmed ainulaadsed omadused, sealhulgas muutused rakutsükli regulatsiooni, apoptoosi ja DNA remondiradadega seotud geenides. Need muutused suurendavad rakuliini kasulikkust geenide vaigistamise või üleekspressiooni bioloogilise mõju uurimisel kolorektaalvahi kontekstis. Näiteks on RKO-E6 rakke kasutatud selleks, et uurida kasvajasupressorgeenide ja onkogeenide mõju vähirakkude käitumisele, sealhulgas proliferatsioonile, invasiivsusele ja resistentsusele kemoterapeutiliste ainete suhtes. Lisaks on RKO-E6 rakud kasulikud uuringutes, mille eesmärk on mõista rakkude reaktsiooni keskkonnastressoritele, nagu oksüdatiivne stress ja DNA-d kahjustavad ained, mis on olulised kolorektaalvahi patogeneesi ja progresseerumise seisukohast. RKO-E6 rakud on väärtuslik mudel kõrge läbilaskevõimega söeltstide jaoks, et hinnata uute vähivastaste ühendite tõhusust. Kokkuvõttes on RKO-E6 rakud kriitiline mudel, mille abil saab edasi arendada teadmisi kolorektaalvahi bioloogiast ning arendada ja katsetada uusi ravistrateegiaid, mis on suunatud selle levinud ja sageli surmaga lõppeva haiguse vastu.

**Organism** Inimene

**Tissue** Colon

**Disease** Jämesoole kartsinoom

**Synonyms** RKOE6

## Omadused

**Morphology** Epiteel

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** RKO-E6 (Cytioni katalooginumber 305135)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3787

## RKO-E6 rakud | 305135

**GMO Status**

GMO-S1: See inimese kolorektaalkartsinoomi rakuliin (RKO-E6) sisaldab HPV-16 E6-d kodeerivat plasmiiidi CMV-promootori kontrolli all, mis võib sisaldada CMV ja HPV-6 sekventsids, mis võimaldab E6-lt sõltuvaid transformatsiooniuringuid. Konstruksioon on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

**Supplements**

Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAGA

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Subculturing**

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Split ratio**

1:2 kuni 1:4

**Fluid renewal**

2 kuni 3 korda nädalas

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## RKO-E6 rakud | 305135

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**RKO-E6 rakud | 305135**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.