

RKO rakud | 305035

Üldine teave

Description

RKO rakud on inimese kolorektaalkartsinoomi rakuliin, mida kasutatakse laialdaselt jämesoolevähiga seotud uuringutes. Need on saadud mõõdukalt diferentseerunud käärsoole adenokartsinoomist ja neid iseloomustab nende metsikut tüüpi p53 staatus, mis on paljude vähirakuliinide seas haruldane. See omadus muudab RKO rakud eriti väärtuslikuks p53 funktsioonide ning DNA parandamise ja apoptoosi rakumehhanismide uurimiseks jämesoolevähi kontekstis.

RKO rakkudel on epiteeliline morfoloogia ning neid iseloomustab geneetiline stabiilsus ja tundlikkus mitmesuguste geneetiliste ja farmakoloogiliste manipulatsioonide suhtes. Neid kasutatakse uuringutes, mis keskenduvad vähi progresseerumisega seotud molekulaarandadele, sealhulgas rakutsükli regulatsioonile, signaaliülekandele ja metastaasile. RKO rakud annavad ülevaate erinevate geenide ja keskkonnategurite rollist kolorektaalvähi arengus ning pakuvad platvormi vähivastaste ravimite tõhususe testimiseks.

Lisaks kasutatakse RKO rakke vähirakkude ja nende mikrokeskkonna vaheliste keeruliste vastastikmõjude ning immuunvastuse uurimiseks kasvajakudede. Nende tundlikkus keemiaravimite ja kiirguse suhtes muudab nad sobivaks ravimite avastamiseks ja arendamiseks, aidates tuvastada potentsiaalseid terapeutilisi sihtmärke ja hinnata uusi kolorektaalvähi ravistrateegiaid.

Üldiselt on RKO rakud põhiline ressurss kolorektaalvähi uurimisel, aidates oluliselt kaasa haiguse molekulaarbioloogia mõistmisele ja tõhusamate ravimeetodite väljatöötamisele.

Organism Inimene

Tissue Colon

Disease Jämesoole kartsinoom

Omadused

Ethnicity Aafrika

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation RKO (Cytioni katalooginumber 305035)

Biosafety level 1

RKO rakud | 305035

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0504

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Urokinaasi retseptor (u-PAR)

Tumorigenic Jah

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, 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 katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

RKO rakud | 305035

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% 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 rakud | 305035

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.

STR-profiil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 8,1
D13S317: 8,11
D16S539: 12,13
D5S818: 11,13
D7S820: 8,1
TH01: 6,1
TPOX: 11
vWA: 15, 16, 17, 22
D3S1358: 16,19
D21S11: 27, 29, 30
D18S51: 11,12
Penta E: 11,13
Penta D: 10,11
D8S1179: 9, 13, 14
FGA: 20, 21, 22, 23
D1S1656: 14,17,3
D6S1043: 14,19
D2S1338: 16
D12S391: 15, 19, 20
D19S433: 14