

RKO-E6-solut | 305135

Yleisiä tietoja

Description RKO-E6-solut ovat ihmisen kolorektaalikarsinooman solulinja, joka on johdettu RKO-solulinjasta lisämutageenisoimalla. Näitä soluja käytetään yleisesti syöpätutkimuksessa, jossa keskitytään erityisesti paksu- ja peräsuolen syöpään. RKO-linjan E6-muunnos tarjoaa erillisen profiilin, joka on hyödyllinen tiettyjen geneettisten manipulaatioiden vaikutusten tutkimisessa ja paksusuolen syövän kasvainten synnyn ja etäpesäkkeiden molekyylimekanismien tutkimisessa. RKO-E6-soluille on ominaista useita ainutlaatuisia piirteitä, mukaan lukien solusyklin säätelyyn, apoptoosiin ja DNA:n korjautumisreitteihin liittyvien geenien muutokset. Nämä muutokset parantavat solulinjan käyttökelpoisuutta tutkittaessa geenien vaimentamisen tai yli-ilmentämisen biologisia vaikutuksia paksusuolen syövän yhteydessä. RKO-E6-soluja on esimerkiksi käytetty tutkimaan kasvainsuppressorigeenien ja onkogeneenien vaikutusta syöpäsolujen käyttäytymiseen, mukaan lukien proliferaatio, invaasio ja resistenssi kemoterapeuttisille aineille. Lisäksi RKO-E6-solut ovat käyttökelpoisia tutkimuksissa, joilla pyritään ymmärtämään solujen reaktioita ympäristöstressitekijöihin, kuten oksidatiiviseen stressiin ja DNA:ta vahingoittaviin aineisiin, jotka ovat merkityksellisiä paksusuolisyövän patogeeniin ja etenemisen kannalta. Niiden vankat kasvuominaisuudet ja geneettinen stabiilisuus tekevät niistä arvokkaan mallin korkean läpimenotekhon seulontamäärityksille, joilla arvioidaan uusien syöpäyhdisteiden tehoa. Yhteenvedona voidaan todeta, että RKO-E6-solut ovat ratkaisevan tärkeä malli, jonka avulla voidaan lisätä tietämystä paksusuolen syövän biologiasta ja kehittää ja testata uusia terapeuttisia strategioita, jotka on suunnattu tähän yleiseen ja usein tappavaan sairauteen.

Organism Ihminen

Tissue Paksusuoli

Disease Paksusuolen syöpä

Synonyms RKOE6

Ominaisuudet

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation RKO-E6 (Cytionin luettelonumero 305135)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

RKO-E6-solut | 305135

CellosaurusAccession CVCL_3787**GMO Status** GMO-S1: Tämä ihmisen kolorektaalikarsinooman solulinja (RKO-E6) sisältää HPV-16 E6:ta koodaavan plasmidin CMV-promoottorin ohjaamana, joka mahdollisesti sisältää CMV- ja HPV-6-sekvenssejä, mikä mahdollistaa E6-riippuaiset transformaatiotutkimukset. Konstruktio on vakaasti integroitunut. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.**Biomolekyyli tiedot****Käsittely****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Split ratio** 1:2 – 1:4**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

RKO-E6-solut | 305135

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

RKO-E6-solut | 305135

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.