

RKO-solut | 305035

Yleisiä tietoja

Description

RKO-solut ovat ihmisen paksusuolen karsinooman solulinja, jota käytetään laajalti paksusuolen syöpään liittyvässä tutkimuksessa. Ne ovat peräisin kohtalaisen hyvin erilaistuneesta paksusuolen adenokarsinoomasta, ja niiden erityispiirteenä on villiintynyt p53-tyyppi, joka on harvinaista monissa syöpäsolulinjoissa. Tämä ominaisuus tekee RKO-soluista erityisen arvokkaita p53:n toimintojen sekä DNA:n korjauksen ja apoptoosin solumekanismien tutkimisessa paksusuolen syövän yhteydessä.

RKO-soluilla on epiteelimorfologia, ja niille on ominaista niiden geneettinen vakaus ja herkkyys erilaisille geneettisille ja farmakologisille manipulaatioille. Niitä käytetään tutkimuksissa, joissa keskitytään syövän etenemiseen liittyviin molekyylireitteihin, kuten solusyklin säätelyyn, signaalinsiirtoon ja etäpesäkkeisiin. RKO-solut tarjoavat tietoa eri geenien ja ympäristötekijöiden roolista paksusuolisyyvän kehittämisessä ja alustan syöpälääkkeiden tehokkuuden testaamiseen.

Lisäksi RKO-soluja käytetään syöpäsolujen ja niiden mikroympäristön välisten monimutkaisten vuorovaikutusten sekä kasvainsoluihin kohdistuvan immuunivasteen tutkimiseen. Koska ne ovat herkkiä kemoterapeuttisille aineille ja säteilylle, ne soveltuvat käytettäväksi lääkkeiden löytämisessä ja kehittämisessä, mikä auttaa tunnistamaan mahdollisia terapeuttisia kohteita ja arvioimaan uusia paksu- ja peräsuolisyyvän hoitostrategioita.

Kaiken kaikkiaan RKO-solut ovat keskeinen resurssi paksu- ja peräsuolisyyvän tutkimuksessa, sillä ne edistävät merkittävästi taudin molekyylibiologian ymmärtämistä ja auttavat tehokkaampien hoitojen kehittämisessä.

Organism

Ihminen

Tissue

Paksusuoli

Disease

Paksusuolen syöpä

Ominaisuudet

Ethnicity

Afrikkalainen

Morphology

Epiteeli

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

RKO (Cytionin luettelonumero 305035)

Biosafety level

1

RKO-solut | 305035

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0504

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed Urokinaasireseptori (u-PAR)

Tumorigenic Kyllä

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 tuoreeseen väliaineeseen 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 luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

RKO-solut | 305035

**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 mikrobilääkettä, 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-prosenttisella 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 tarttuvia, 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-solut | 305035

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 ja molekyylianalyysi

Sterility

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

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

STR-profiili

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