

RKO-E6 sejtek | 305135

Általános információk

Description Az RKO-E6 sejtek egy humán kolorektális karcinóma sejtvonala, amely az RKO sejtvonalból származik további mutagenézissel. Ezeket a sejteket gyakran használják a rákkutatásban, különösen a vastagbélrákra összpontosítva. Az RKO-vonal E6-os változata olyan egyedi profillal rendelkezik, amely hasznos a specifikus genetikai manipulációk hatásainak vizsgálatához, valamint a vastagbélrák tumorigenezisének és metasztázisának molekuláris mechanizmusainak tanulmányozásához. Az RKO-E6 sejteket számos egyedi tulajdonság jellemzi, beleértve a sejtciklus szabályozásával, az apoptózissal és a DNS-javító útvonalakkal kapcsolatos gének változását. Ezek a módosítások növelik a sejtvonala hasznosságát a géncsendesítés vagy a gén-túlkifejezés biológiai hatásainak vizsgálatára vastagbélrákos kontextusban. Például az RKO-E6 sejteket alkalmazták a tumorszupresszor gének és onkogének rákos sejtek viselkedésére gyakorolt hatásának tanulmányozására, beleértve a proliferációt, az inváziót és a kemoterápiás szerekekkel szembeni rezisztenciát. Az RKO-E6 sejtek továbbá hasznosak a környezeti stresszorokra, például az oxidatív stresszre és a DNS-károsító szerekre adott sejtválaszok megértését célzó vizsgálatokban, amelyek a vastagbélrák patogenezisében és progressziójában fontosak. Robusztus növekedési jellemzőik és genetikai stabilitásuk értékes modellt teszik őket az új rákellenes vegyületek hatékonyságának értékelésére szolgáló nagy áteresztőképességű szűrővizsgálatokhoz. Összefoglalva, az RKO-E6 sejtek kritikus fontosságú modellt jelentenek a vastagbélrák biológiájával kapcsolatos ismereteink bővítéséhez, valamint az új, e gyakori és gyakran halálos betegségre irányuló terápiás stratégiák kifejlesztéséhez és teszteléséhez.

Organism Emberi

Tissue Vastagbél

Disease Vastagbélrák

Synonyms RKOE6

Jellemzők

Morphology Epithelialis

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation RKO-E6 (Cytion katalógusszám: 305135)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

RKO-E6 sejtek | 305135**CellosaurusAccession** CVCL_3787**GMO Status**

GMO-S1: Ez a humán kolorektális karcinóma sejtvonal (RKO-E6) HPV-16 E6-ot kódoló plazmidot tartalmaz CMV promóter kontroll alatt, amely valószínűleg CMV és HPV-6 szekvenciákat is tartalmaz, lehetővé téve az E6-függő transzformációs vizsgálatokat. A konstrukció stabilan integrálódik. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok**A kezelése****Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)**Supplements**

A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio

1:2–1:4

Fluid renewal

hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

RKO-E6 sejtek | 305135

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

RKO-E6 sejtek | 305135

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.