

Cellule RKO-E6 | 305135

Informazioni generali

Description

Le cellule RKO-E6 sono una linea cellulare di carcinoma coloretale umano derivata dalla linea cellulare RKO attraverso un'ulteriore mutagenesi. Queste cellule sono comunemente utilizzate nella ricerca sul cancro, in particolare sul cancro del colon-retto. La variante E6 della linea RKO offre un profilo distinto, utile per esaminare gli effetti di specifiche manipolazioni genetiche e studiare i meccanismi molecolari della tumorigenesi e delle metastasi nel cancro del colon-retto. Le cellule RKO-E6 sono caratterizzate da diverse caratteristiche uniche, tra cui alterazioni nei geni legati alla regolazione del ciclo cellulare, all'apoptosi e alle vie di riparazione del DNA. Queste modifiche aumentano l'utilità della linea cellulare per studiare gli effetti biologici del silenziamento o della sovraespressione dei geni in un contesto di cancro del colon-retto. Ad esempio, le cellule RKO-E6 sono state utilizzate per studiare l'impatto dei geni soppressori del tumore e degli oncogeni sul comportamento delle cellule tumorali, tra cui la proliferazione, l'invasione e la resistenza agli agenti chemioterapici. Inoltre, le cellule RKO-E6 sono utili negli studi volti a comprendere le risposte cellulari ai fattori di stress ambientale, come lo stress ossidativo e gli agenti che danneggiano il DNA, che sono rilevanti per la patogenesi e la progressione del cancro del colon-retto. Le loro robuste caratteristiche di crescita e la loro stabilità genetica le rendono un modello prezioso per saggi di screening ad alto rendimento per valutare l'efficacia di nuovi composti antitumorali. In sintesi, le cellule RKO-E6 rappresentano un modello fondamentale per approfondire le nostre conoscenze sulla biologia del cancro del colon-retto e per sviluppare e testare nuove strategie terapeutiche mirate a questa malattia prevalente e spesso mortale.

Organism Umano

Tissue Colon

Disease Carcinoma del colon

Synonyms RKOE6

Caratteristiche

Morphology Epiteliale

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation RKO-E6 (numero di catalogo Cytion 305135)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

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

GMO-S1: Questa linea cellulare di carcinoma coloretale umano (RKO-E6) contiene un plasmide che codifica l'HPV-16 E6 sotto il controllo del promotore CMV, includendo eventualmente sequenze CMV e HPV-6, per consentire studi di trasformazione E6-dipendente. Il costrutto è integrato in modo stabile. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari**Manipolazione****Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)**Supplements**

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio

da 1:2 a 1:4

Fluid renewal

da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule RKO-E6 | 305135

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule RKO-E6 | 305135

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.