

## RKO-E6 ląstelės | 305135

## Bendra informacija

**Description** RKO-E6 ląstelės - tai žmogaus storosios žarnos vėžio karcinomos ląstelių linija, išvesta iš RKO ląstelių linijos papildomos mutagenėzės būdu. Šios ląstelės dažnai naudojamos vėžio tyrimams, ypač storosios žarnos vėžiui tirti. RKO linijos E6 variantas pasižymi išskirtiniu profiliu, kuris naudingas tiriant konkrečių genetinių manipuliacijų poveikį ir tiriant storosios žarnos vėžio naviko genezės ir metastazių molekulinis mechanizmus. RKO-E6 ląstelėms būdingos kelios unikalios savybės, įskaitant genų, susijusių su ląstelių ciklo reguliavimu, apoptoze ir DNR taisymo keliais, pokyčius. Šie pokyčiai padidina ląstelių linijos naudingumą tiriant biologinį genų nuslopinimo ar per didelės ekspresijos poveikį storosios žarnos vėžio kontekste. Pavyzdžiui, RKO-E6 ląstelės buvo naudojamos tiriant naviko supresorinių genų ir onkogenų įtaką vėžio ląstelių elgsenai, įskaitant proliferaciją, invaziją ir atsparumą chemoterapiniams preparatams. Be to, RKO-E6 ląstelės yra naudingos atliekant tyrimus, kuriais siekiama suprasti ląstelių reakciją į aplinkos stresorius, pavyzdžiui, oksidacinę stresą ir DNR pažeidžiančius veiksnius, kurie yra svarbūs storosios žarnos vėžio patogenezėi ir progresavimui. Dėl savo tvirtų augimo savybių ir genetinio stabilumo šios ląstelės yra vertingas didelio našumo atrankinių tyrimų modelis, skirtas naujų priešvėžinių junginių veiksmingumui įvertinti. Apibendrinant galima teigti, kad RKO-E6 ląstelės yra labai svarbus modelis, padedantis gilinti mūsų žinias apie storosios žarnos vėžio biologiją ir kurti bei išbandyti naujas terapines strategijas, skirtas šiai paplitusiai ir dažnai mirtinai pavojingai ligai gydyti.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Storosios žarnos

**Disease** Storosios žarnos karcinoma

**Synonyms** RKOE6

## Charakteristikos

**Morphology** Epitelis

**Growth properties** Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** RKO-E6 (Cytion katalogo numeris 305135)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3787

## RKO-E6 ląstelės | 305135

**GMO Status** GMO-S1: šioje žmogaus storosios žarnos vėžio karcinomos ląstelių linijoje (RKO-E6) yra plazmidė, koduojanti ŽPV-16 E6, kontroliuojama CMV promotoriaus, galbūt įskaitant CMV ir ŽPV-6 sekas, todėl galima atlikti nuo E6 priklausomos transformacijos tyrimus. Konstruktas yra stabiliai integruotas. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

## Biomolekuliniai duomenys

## Tvarkymas

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Split ratio** nuo 1:2 iki 1:4

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## RKO-E6 ląstelės | 305135

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**RKO-E6 ląstelės | 305135**

**Storage  
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

**Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.