

## RKO-E6 šūnas | 305135

## Vispārīga informācija

**Description** RKO-E6 šūnas ir cilvēka kolorektālās karcinomas šūnu līnija, kas iegūta no RKO šūnu līnijas, izmantojot papildu mutagenēzi. Šīs šūnas parasti izmanto vēža pētījumos, īpaši pievēršoties kolorektālajam vēzim. RKO līnijas E6 variants piedāvā atšķirīgu profilu, kas ir noderīgs, lai pētītu specifisku ģenētisku manipulāciju ietekmi un kolorektālā vēža audzēju un metastāžu molekulāro mehānismu izpēti. RKO-E6 šūnām ir raksturīgas vairākas unikālas iezīmes, tostarp izmaiņas gēnos, kas saistīti ar šūnu cikla regulāciju, apoptozi un DNS atjaunošanas ceļiem. Šīs modifikācijas palielina šūnu līnijas lietderību, lai pētītu gēnu slāpēšanas vai pārmērīgas ekspresijas bioloģisko ietekmi kolorektālā vēža kontekstā. Piemēram, RKO-E6 šūnas ir izmantotas, lai pētītu audzēja supresoru gēnu un onkogēnu ietekmi uz vēža šūnu uzvedību, tostarp proliferāciju, invāziju un rezistenci pret ķīmijterapijas līdzekļiem. Turklāt RKO-E6 šūnas ir noderīgas pētījumos, kuru mērķis ir izprast šūnu reakciju uz vides stresoriem, piemēram, oksidatīvo stresu un DNS bojājošiem aģentiem, kas ir būtiski kolorektālā vēža patoģenēzei un progresēšanai. To spēcīgās augšanas īpašības un ģenētiskā stabilitāte padara tās par vērtīgu modeli augstas izšķirtspējas skrīninga testiem, lai novērtētu jaunu pretvēža savienojumu efektivitāti. Kopumā RKO-E6 šūnas ir izšķirošs modelis, lai uzlabotu mūsu zināšanas par kolorektālā vēža bioloģiju un izstrādātu un pārbaudītu jaunas terapeitiskās stratēģijas, kas paredzētas šai izplatītajai un bieži vien nāvējošajai slimībai.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Resnās zarnas

**Disease** Resnās zarnas karcinoma

**Synonyms** RKOE6

## Raksturojums

**Morphology** Epitēlija

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** RKO-E6 (Cytion kataloga numurs 305135)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3787

## RKO-E6 šūnas | 305135

**GMO Status** GMO-S1: Šī cilvēka kolorektālās karcinomas šūnu līnija (RKO-E6) satur plazmīdu, kas kodē HPV-16 E6 CMV promotora kontrolē, iespējams, ietverot CMV un HPV-6 sekvences, kas ļauj veikt E6 atkarīgas transformācijas pētījumus. Konstrukts ir stabili integrēts. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

**Biomolekulārie dati****Darbs ar**

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

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Split ratio** no 1:2 līdz 1:4

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## RKO-E6 šūnas | 305135

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**RKO-E6 šūnas | 305135**

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.