

RKO-E6-celler | 305135

Generell informasjon

Description RKO-E6-celler er en human kolorektal karsinomcellelinje som er avledet fra RKO-cellelinjen gjennom ytterligere mutagenese. Disse cellene brukes ofte i kreftforskning, særlig med fokus på kolorektal kreft. E6-varianten av RKO-cellelinjen har en distinkt profil som er nyttig for å undersøke effekten av spesifikke genetiske manipulasjoner og studere de molekylære mekanismene for tumorigenese og metastase i kolorektal kreft. RKO-E6-celler kjennetegnes av flere unike egenskaper, blant annet endringer i gener knyttet til cellyklusregulering, apoptose og DNA-reparasjonsveier. Disse endringene gjør cellelinjen enda bedre egnet til å undersøke de biologiske effektene av gendemping eller overuttrykk av gener i forbindelse med kolorektal kreft. RKO-E6-celler har for eksempel blitt brukt til å studere virkningen av tumorsuppressorgener og onkogener på kreftcellers atferd, inkludert proliferasjon, invasjon og resistens mot kjemoterapeutiske midler. Videre er RKO-E6-celler nyttige i studier som tar sikte på å forstå cellenes respons på miljømessige stressfaktorer, som oksidativt stress og DNA-skadelige stoffer, som er relevante for patogenesisen og utviklingen av kolorektal kreft. De robuste vekstegenskapene og den genetiske stabiliteten gjør dem til en verdifull modell for screeninganalyser med høy gjennomstrømning for å evaluere effekten av nye kreftmedikamenter. RKO-E6-celler er en viktig modell for å øke kunnskapen om biologien bak kolorektal kreft og for å utvikle og teste nye behandlingsstrategier rettet mot denne utbredte og ofte dødelige sykdommen.

Organism Menneskelig

Tissue Colon

Disease Tykktarmskarsinom

Synonyms RKOE6

Kjennetegn

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation RKO-E6 (Cytion-katalognummer 305135)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellSaurusAccession CVCL_3787

RKO-E6-celler | 305135**GMO Status**

GMO-S1: Denne humane kolorektale karsinomcellelinjen (RKO-E6) inneholder et plasmid som koder for HPV-16 E6 under CMV-promoterkontroll, muligens inkludert CMV- og HPV-6-sekvenser, noe som muliggjør E6-avhengige transformasjonsstudier. Konstruktet er stabilt integrert. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data**Håndtering****Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)

Supplements

Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio

1:2 til 1:4

Fluid renewal

2 til 3 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

RKO-E6-celler | 305135

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

RKO-E6-celler | 305135

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.