

Komórki RKO-E6 | 305135

Informacje ogólne

Description Komórki RKO-E6 to ludzka linia komórkowa raka jelita grubego pochodząca z linii komórkowej RKO poprzez dodatkową mutagenezę. Komórki te są powszechnie wykorzystywane w badaniach nad rakiem, w szczególności koncentrując się na raku jelita grubego. Wariant E6 linii RKO oferuje odrębny profil, który jest przydatny do badania skutków określonych manipulacji genetycznych i badania molekularnych mechanizmów nowotworzenia i przerzutów w raku jelita grubego. Komórki RKO-E6 charakteryzują się kilkoma unikalnymi cechami, w tym zmianami w genach związanych z regulacją cyklu komórkowego, apoptozą i szlakami naprawy DNA. Modyfikacje te zwiększają użyteczność linii komórkowej do badania biologicznych skutków wyciszania lub nadekspresji genów w kontekście raka jelita grubego. Na przykład, komórki RKO-E6 zostały wykorzystane do badania wpływu genów supresorowych guza i onkogenów na zachowanie komórek nowotworowych, w tym proliferację, inwazję i oporność na środki chemioterapeutyczne. Ponadto, komórki RKO-E6 są przydatne w badaniach mających na celu zrozumienie odpowiedzi komórkowej na stresory środowiskowe, takie jak stres oksydacyjny i czynniki uszkodzające DNA, które są istotne dla patogenezy i progresji raka jelita grubego. Ich silna charakterystyka wzrostu i stabilność genetyczna sprawiają, że są one cennym modelem dla wysokowydajnych testów przesiewowych w celu oceny skuteczności nowych związków przeciwnowotworowych. Podsumowując, komórki RKO-E6 stanowią krytyczny model do pogłębiania naszej wiedzy na temat biologii raka jelita grubego oraz do opracowywania i testowania nowych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na tę powszechną i często śmiertelną chorobę.

Organism Człowiek

Tissue Colon

Disease Rak okrężnicy

Synonyms RKOE6

Charakterystyka

Morphology Nabłonek

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation RKO-E6 (numer katalogowy Cytion 305135)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

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

GMO-S1: Ta linia komórkowa ludzkiego raka jelita grubego (RKO-E6) zawiera plazmid kodujący HPV-16 E6 pod kontrolą promotora CMV, prawdopodobnie zawierający sekwencje CMV i HPV-6, umożliwiając badania transformacji zależnej od E6. Konstrukt jest stabilnie zintegrowany. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne**Obsługa****Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements**

Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio

1:2 do 1:4

Fluid renewal

2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki RKO-E6 | 305135**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki RKO-E6 | 305135

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.