

Komórki RKO | 305035

Informacje ogólne

Description

Komórki RKO to ludzka linia komórek raka jelita grubego szeroko stosowana w badaniach związanych z rakiem jelita grubego. Pochodzą one z umiarkowanie dobrze zróżnicowanego gruczolaka okrężnicy i wyróżniają się statusem dzikiego typu p53, który jest rzadkością wśród wielu linii komórkowych raka. Cecha ta sprawia, że komórki RKO są szczególnie cenne do badania funkcji p53 oraz komórkowych mechanizmów naprawy DNA i apoptozy w kontekście raka jelita grubego.

Komórki RKO wykazują morfologię nabłonkową i charakteryzują się stabilnością genetyczną oraz wrażliwością na różne manipulacje genetyczne i farmakologiczne. Są one wykorzystywane w badaniach skupiających się na szlakach molekularnych zaangażowanych w progresję raka, w tym regulację cyklu komórkowego, transdukcję sygnału i przerzuty. Komórki RKO zapewniają wgląd w rolę różnych genów i czynników środowiskowych w rozwoju raka jelita grubego i oferują platformę do testowania skuteczności leków przeciwnowotworowych.

Ponadto komórki RKO są wykorzystywane do badania złożonych interakcji między komórkami nowotworowymi a ich mikrośrodowiskiem, a także odpowiedzi immunologicznej na komórki nowotworowe. Ich wrażliwość na środki chemioterapeutyczne i promieniowanie sprawia, że są one odpowiednie do stosowania w odkrywaniu i opracowywaniu leków, pomagając zidentyfikować potencjalne cele terapeutyczne i ocenić nowe strategie leczenia raka jelita grubego.

Ogólnie rzecz biorąc, komórki RKO są fundamentalnym zasobem w badaniach nad rakiem jelita grubego, znacząco przyczyniając się do naszego zrozumienia biologii molekularnej choroby i pomagając w opracowaniu skuteczniejszych metod leczenia.

Organism Człowiek

Tissue Colon

Disease Rak okrężnicy

Charakterystyka

Ethnicity Afrykański

Morphology Nabłonek

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation RKO (numer katalogowy Cytion 305035)

Biosafety level 1

Komórki RKO | 305035

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0504

Dane biomolekularne

Receptors expressed Receptor urokinazy (u-PAR)**Tumorigenic** Tak

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 Usun 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 | 305035**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 | 305035**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.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 8,1
D13S317: 8,11
D16S539: 12,13
D5S818: 11,13
D7S820: 8,1
TH01: 6,1
TPOX: 11
vWA: 15,16,17,22
D3S1358: 16,19
D21S11: 27,29,30
D18S51: 11,12
Penta E: 11,13
Penta D: 10,11
D8S1179: 9,13,14
FGA: 20,21,22,23
D1S1656: 14,17.3
D6S1043: 14,19
D2S1338: 16
D12S391: 15,19,20
D19S433: 14