

Células RKO-E6 | 305135**Informações gerais**

Description	As células RKO-E6 são uma linha celular de carcinoma colorrectal humano derivada da linha celular RKO através de mutagénese adicional. Estas células são habitualmente utilizadas na investigação sobre o cancro, com especial incidência no cancro colorrectal. A variante E6 da linha RKO oferece um perfil distinto que é útil para examinar os efeitos de manipulações genéticas específicas e estudar os mecanismos moleculares da tumorigénese e das metástases no cancro colorrectal. As células RKO-E6 são caracterizadas por várias caraterísticas únicas, incluindo alterações nos genes relacionados com a regulação do ciclo celular, a apoptose e as vias de reparação do ADN. Estas modificações aumentam a utilidade da linha celular para investigar os efeitos biológicos do silenciamento ou sobreexpressão de genes no contexto do cancro colorrectal. Por exemplo, as células RKO-E6 têm sido utilizadas para estudar o impacto dos genes supressores de tumores e dos oncogenes no comportamento das células cancerosas, incluindo a proliferação, a invasão e a resistência aos agentes quimioterapêuticos. Além disso, as células RKO-E6 são úteis em estudos destinados a compreender as respostas celulares a factores de stress ambiental, como o stress oxidativo e os agentes que danificam o ADN, que são relevantes para a patogénese e a progressão do cancro colorrectal. As suas caraterísticas de crescimento robustas e a sua estabilidade genética tornam-nas um modelo valioso para ensaios de rastreio de elevado rendimento destinados a avaliar a eficácia de novos compostos anticancerígenos. Em resumo, as células RKO-E6 constituem um modelo fundamental para o avanço dos nossos conhecimentos sobre a biologia do cancro colorrectal e para o desenvolvimento e teste de novas estratégias terapêuticas dirigidas a esta doença prevalente e frequentemente mortal.
--------------------	--

Organism	Humano
-----------------	--------

Tissue	Cólon
---------------	-------

Disease	Carcinoma do cólon
----------------	--------------------

Synonyms	RKOE6
-----------------	-------

Caraterísticas

Morphology	Epitelial
-------------------	-----------

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dados regulamentares

Citation	RKO-E6 (número de catálogo Cytion 305135)
-----------------	---

Biosafety level	2
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

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

GMO-S1: Esta linha celular de carcinoma colorrectal humano (RKO-E6) contém um plasmídeo que codifica HPV-16 E6 sob controlo do promotor CMV, possivelmente incluindo sequências de CMV e HPV-6, permitindo estudos de transformação dependentes de E6. A construção está integrada de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares**Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células RKO-E6 | 305135

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.