

Células RKO | 305035**Informações gerais****Description**

As células RKO são uma linha celular de carcinoma colorrectal humano amplamente utilizada na investigação relacionada com o cancro do cólon. São derivadas de um adenocarcinoma do cólon moderadamente bem diferenciado e distinguem-se pelo seu estatuto de p53 de tipo selvagem, o que é pouco comum em muitas linhas celulares de cancro. Esta característica torna as células RKO particularmente valiosas para o estudo das funções do p53 e dos mecanismos celulares de reparação do ADN e apoptose no contexto do cancro colorrectal.

As células RKO apresentam uma morfologia epitelial e caracterizam-se pela sua estabilidade genética e capacidade de reação a uma variedade de manipulações genéticas e farmacológicas. São utilizadas em estudos que incidem sobre as vias moleculares envolvidas na progressão do cancro, incluindo a regulação do ciclo celular, a transdução de sinais e as metástases. As células RKO fornecem informações sobre o papel de vários genes e factores ambientais no desenvolvimento do cancro colorrectal e oferecem uma plataforma para testar a eficácia de medicamentos anticancerígenos.

Além disso, as células RKO são utilizadas para explorar as interações complexas entre as células cancerosas e o seu microambiente, bem como a resposta imunitária às células tumorais. A sua sensibilidade aos agentes quimioterapêuticos e à radiação torna-as adequadas para utilização na descoberta e desenvolvimento de medicamentos, ajudando a identificar potenciais alvos terapêuticos e a avaliar novas estratégias de tratamento do cancro colorrectal.

Globalmente, as células RKO são um recurso fundamental na investigação do cancro colorrectal, contribuindo significativamente para a nossa compreensão da biologia molecular da doença e ajudando no desenvolvimento de tratamentos mais eficazes.

Organism Humano**Tissue** Cólon**Disease** Carcinoma do cólon**Caraterísticas****Ethnicity** Africano**Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** RKO (número de catálogo Cytion 305035)

Células RKO | 305035

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0504

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Recetor de uroquinase (u-PAR)
----------------------------	-------------------------------

Tumorigenic	Sim
--------------------	-----

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , 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 | 305035**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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 | 305035**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.

Perfil 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