

Клетки Caki-2 | 300140

Обща информация

Description

Caki-2 е човешка клетъчна линия на светлоклетъчен бъбречноклетъчен карцином (ccRCC), която има епителна морфология и се слепва при *in vitro* условия на култивиране. Тя служи като основен предклиничен модел за изследване на механизмите на бъбречния рак и терапевтичните реакции. Линията Caki-2 се отличава с резистентност към някои химиотерапевтични средства; тя показва намалена чувствителност към 5-флуороурацил и мултикиназния инхибитор сорафениб, който е насочен срещу VEGFR 1-3, PDGFR-b и Raf-1, в сравнение с клетъчната линия Caki-1. Тази диференцирана чувствителност е от значение за изучаване на механизмите на лекарствена резистентност и оценка на нови терапевтични стратегии при бъбречноклетъчен карцином.

Генетичният фон на клетките Caki-2 включва мутация със загуба на функция в туморния супресорен протеин von Hippel-Lindau (VHL) - отличителен белег на много ccRCC, който води до дерегулация на хипоксия-индуцируемите фактори (HIF) и допринася за туморогенезата. Способността на клетките Caki-2 да образуват тумори в имунокомпрометирани мишки ги прави ценен инструмент за *in vivo* изследвания на растежа на рака и метастазите, като предоставя информация за туморната среда и потенциални терапевтични интервенции. Използването им се разширява до изследване на ролята на VHL в прогресията на рака и тестване на ефикасността на лекарства, насочени към пътя HIF и други свързани сигнални каскади в контролирана експериментална среда.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Disease Папиларен карцином

Synonyms CAKI-2, CaKi-2, Caki-2, CAKI 2, Caki 2, Caki2, CAKI2

Характеристики

Age 69 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител. Ултраструктурните характеристики включват микровили и микрофиламенти. Малко митохондрии, лизозоми или липидни капчици. Чести мултиламеларни тела. Няма вирусни частици.

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Клетки Caki-2 | 300140

Citation	Caki-2 (каталожен номер 300140 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0235

Биомолекулярни данни

Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Фенотип Честота на продукта: 0.0511
Tumorigenic	Да, при голи мишки. Образува светлоклетъчен карцином
Karyotype	(P8) хипопентаплоидни до хипохексаплоидни (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) с аномалии, включително дицентрици, акроцентрични фрагменти, минути, прекъсвания и големи субтелоцентрични маркери

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10 ⁴ клетки/cm ² ще доведе до 90% конфлуентен монослой за около 4 дни.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10 ⁴ клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Клетки Caki-2 | 300140

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки Caki-2 | 300140

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.