

Клетки CaKi-1 | 300149

Обща информация

Description

Клетъчната линия CaKi-1 е получена от метастатичен участък на човешки бъбречен светлоклетъчен карцином. Създадени от тумор, разположен в стената на бъбречната вена на пациент от мъжки пол, клетките CaKi-1 се използват често в изследването на биологията на бъбречния рак, особено за разбиране на механизмите, лежащи в основата на светлоклетъчния бъбречноклетъчен карцином (ccRCC). Тази клетъчна линия е с епителиална морфология и има стабилни ин витро характеристики на растеж, което я прави подходяща за различни експериментални техники, включително скрининг на лекарства и молекулярно-биологични изследвания.

CaKi-1 се отличава с комплексен кариотип, характеризира се с модален брой хромозоми от 68, като вариациите варират от 63 до 71. Тази анеуплоидна хромозомна конфигурация подчертава триплоидния диапазон с някои аномалии; по-специално Y хромозомата отсъства, което не е необичайно за туморните клетъчни линии от мъжки произход. Клетъчната линия демонстрира няколко хромозомни аберации, включително множество маркерни хромозоми и промени в хромозоми N5, N9, N10, N16 и N19, което допринася за нейната полезност в изследванията на рака.

Що се отнася до туморогенността, CaKi-1 е способна да образува тумори в голи мишки и е докладвано, че постоянно произвежда светлоклетъчен карцином, който отразява патологията на първичния бъбречен тумор. Тази характеристика го прави безценен модел за *in vivo* изследвания на метастазите на бъбречния рак и туморната биология. В експериментални условия е наблюдавано, че клетъчната линия метастазира и в кожата. От биохимична гледна точка CaKi-1 експресира различни изоензими и антигени, включително кръвна група O, Rh- и HLA типове A9, B12, Bw35. Профилирането на изоензимите включва AK-1, ES-D, G6PD B, GLO-I, Me-2, PGM1 и PGM3, които могат да бъдат от значение за изследванията на клетъчния метаболизъм и генетичната експресия, свързани с прогресията на рака и отговора на лечението.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Disease Ясноклетъчен карцином

Synonyms CAKI-1, CaKi-1, caki-1, CAKI.1, CAKI 1, CAKI1, Caki1

Характеристики

Age 49 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител

Клетки Caki-1 | 300149

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation Caki-1 (каталожен номер на Cytion 300149)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0234

Биомолекулярни данни

Tumorigenic Да, при голи мишки

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

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 Препоръчва се 2×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Клетки Caki-1 | 300149

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

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки Caki-1 | 300149

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

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

HLA алели

A*: '23:01:01, '24:02:01
B*: '35:02:01, '44:03:01
C*: '04:01:01, 04:63
DRB1*: '07:01:01, '11:04:01
DQA1*: '02:01:01, '05:05:01
DQB1*: '02:02:01, '03:01:01
DPB1*: '02:01:02, '10:01:01
E: '01:01:01, '01:03:01