

Buňky Caki-2 | 300140**Obecné informace****Description**

Caki-2 je lidská buněčná linie světlóbuněčného karcinomu ledviny (ccRCC), která vykazuje epiteliální morfologii a v podmínkách kultivace in vitro adheruje. Slouží jako základní preklinický model pro zkoumání mechanismů vzniku karcinomu ledvin a terapeutických reakcí. Linie Caki-2 se vyznačuje zejména rezistencí vůči některým chemoterapeutickým látkám; ve srovnání s buněčnou linií Caki-1 vykazuje sníženou citlivost vůči 5-fluorouracilu a multikinázovému inhibitoru sorafenibu, který je zaměřen proti VEGFR 1-3, PDGFR-b a Raf-1. Tato rozdílná citlivost je významná pro studium mechanismů rezistence na léky a hodnocení nových terapeutických strategií u karcinomu ledvin.

Genetické pozadí buněk Caki-2 zahrnuje mutaci se ztrátou funkce ve von Hippel-Lindauově (VHL) tumor supresorovém proteinu, což je charakteristický znak mnoha ccRCC, který vede k deregulaci hypoxií indukovaných faktorů (HIF) a přispívá k tumorigenezi. Schopnost buněk Caki-2 vytvářet nádory v imunokompromitovaných myších z nich činí cenný nástroj pro in vivo studie růstu a metastazování nádorů, který poskytuje vhled do nádorového prostředí a potenciálních terapeutických zásahů. Jejich využití se rozšiřuje na zkoumání role VHL v progresi rakoviny a testování účinnosti léků zaměřených na dráhu HIF a další související signální kaskády v kontrolovaném experimentálním uspořádání.

Organism Člověk**Tissue** Ledviny**Disease** Papilární karcinom**Synonyms** CAKI-2, CaKi-2, caki-2, CAKI 2, Caki 2, Caki2, CAKI2**Charakteristika****Age** 69 let**Gender** Muži**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Epiteloidní. Ultrastrukturální znaky zahrnují mikrovilie a mikrofilamenta. Málo mitochondrií, lysozomů nebo lipidových kapének. Častá multilamelární tělíska. Žádné virové částice.**Growth properties** Monovrstva, adherentní**Regulační údaje**

Buňky Caki-2 | 300140**Citation** Caki-2 (katalogové číslo Cytion 300140)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0235**Biomolekulární data****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotyp Frekvence produktu: 0.0511**Tumorigenic** Ano, na nahých myších. Tvoří světlobuněčný karcinom**Karyotype** (P8) hypopentaploidní až hypohexaploidní (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) s abnormalitami včetně dicentrických, akrocentrických fragmentů, minut, zlomů a velkých subtelocentrických markerů**Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčiku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředíte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6**Seeding density** 1×10^4 buněk/cm² bude mít za následek 90% konfluentní monovrstvu za přibližně 4 dny.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky Caki-2 | 300140**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Buňky Caki-2 | 300140

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 10
D16S539: 9,13
D5S818: 11
D7S820: 12
TH01: 6
TPOX: 9,11
vWA: 16,17
D3S1358: 14
D21S11: 27,31
D18S51: 17
Penta E: 7,17
Penta D: 10,13
D8S1179: 10
FGA: 22
PEZ6: B-LCL-HROC43