

Κύτταρα Caki-2 | 300140

Γενικές πληροφορίες

Description

Το Caki-2 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καθαροκυτταρικού νεφροκυτταρικού καρκινώματος (ccRCC) που παρουσιάζει επιθηλιακή μορφολογία και προσκολλάται σε συνθήκες καλλιέργειας in vitro. Χρησιμεύει ως βασικό προκλινικό μοντέλο για τη διερεύνηση των μηχανισμών του νεφρικού καρκίνου και των θεραπευτικών αποκρίσεων. Η σειρά Caki-2 είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτη για την ανθεκτικότητά της σε ορισμένους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες- εμφανίζει μειωμένη ευαισθησία στην 5-φθοροουρακίλη και στον αναστολέα πολλαπλών κινασών sorafenib, ο οποίος στοχεύει τους VEGFRs 1-3, PDGFR-b και Raf-1, σε σύγκριση με την κυτταρική σειρά Caki-1. Αυτή η διαφορετική ευαισθησία είναι σημαντική για τη μελέτη των μηχανισμών αντίστασης στα φάρμακα και την αξιολόγηση νέων θεραπευτικών στρατηγικών στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα.

Το γενετικό υπόβαθρο των κυττάρων Caki-2 περιλαμβάνει μια μετάλλαξη με απώλεια λειτουργίας στην ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη von Hippel-Lindau (VHL), χαρακτηριστικό γνώρισμα πολλών ccRCC που οδηγεί στην απορρύθμιση των παραγόντων που επάγονται από την υποξία (HIFs) και συμβάλλει στην καρκινογένεση. Η ικανότητα των κυττάρων Caki-2 να σχηματίζουν όγκους σε ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια τα καθιστά πολύτιμο εργαλείο για in vivo μελέτες της ανάπτυξης και της μετάστασης του καρκίνου, παρέχοντας πληροφορίες για το περιβάλλον του όγκου και πιθανές θεραπευτικές παρεμβάσεις. Η χρήση τους επεκτείνεται στη διερεύνηση του ρόλου του VHL στην εξέλιξη του καρκίνου και στη δοκιμή της αποτελεσματικότητας φαρμάκων που στοχεύουν το μονοπάτι HIF και άλλους συναφείς σηματοδοτικούς καταρράκτες σε μια ελεγχόμενη πειραματική διάταξη.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Νεφρός

Disease Θηλώδες καρκίνωμα

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

Χαρακτηριστικά

Age 69 χρόνια

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Morphology Επιθηλιοειδής. Τα υπερδομικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν microvilli και μικροϊνίδια. Λίγα μιτοχόνδρια, λυσοσώματα ή σταγονίδια λιπιδίων. Συχνά πολυκυτταρικά σώματα. Δεν υπάρχουν σωματίδια ιού.

Growth properties Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Κύτταρα Caki-2 | 300140**Ρυθμιστικά δεδομένα**

Citation	Caki-2 (αριθμός καταλόγου Cytion 300140)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0235

Βιομοριακά δεδομένα

Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπου: 0.0511
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια. Σχηματίζει καθαροκυτταρικό καρκίνωμα
Karyotype	(P8) υποπενταπλοειδής έως υποεξαπλοειδής (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) με ανωμαλίες που περιλαμβάνουν δικεντρικά, ακροκεντρικά θραύσματα, λεπτά, διαλείμματα και μεγάλους υποτελοκεντρικούς δείκτες

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10 ⁴ κύτταρα/cm ² θα οδηγήσει σε 90% συγκλίνουσα μονοστρωματική επίστρωση σε περίπου 4 ημέρες.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

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

Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Κύτταρα Caki-2 | 300140

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.