

Caki-2 rakud | 300140

Üldine teave

Description

Caki-2 on inimese selge rakulise neerurakk-kartsinoomi (ccRCC) rakuliin, millel on epiteliaalne morfoloogia ja mis kleepub in vitro kasvatustingimustes. See on oluline prekliiniline mudel neeruvähi mehhanismide ja ravivastuste uurimiseks. Caki-2 rakuliin on eriti tähelepanuväärne oma resistentsuse poolest teatavate kemoterapeutiliste ainete suhtes; võrreldes Caki-1 rakuliiniga on see vähem tundlik 5-fluorouratsiili ja multikinaasi inhibiitori sorafeniibi suhtes, mis on suunatud VEGFR 1-3, PDGFR-b ja Raf-1 vastu. See erinev tundlikkus on oluline ravimite resistentsuse mehhanismide uurimiseks ja uute ravistrateegiate hindamiseks neerurakk-kartsinoomi puhul.

Caki-2 rakkude geneetilisel taustal on von Hippel-Lindau (VHL) kasvajasupressorvalgu funktsiooni kadumise mutatsioon, mis on paljude neerukollete iseloomulikuks tunnuseks, mis põhjustab hüpoksia indutseeritavate faktorite (HIF) dereguleerimist ja aitab kaasa tuumorogeneesi tekkimisele. Caki-2 rakkude võime moodustada immuunpuudulikkusega hiirtel kasvajaid teeb neist väärtusliku vahendi vähi kasvu ja metastaasi in vivo uuringuteks, mis annab ülevaate kasvajakeskonnast ja võimalikest ravimeetoditest. Nende kasutamine laieneb VHL-i rolli uurimisele vähi progresseerumises ning HIF-tee ja teiste sellega seotud signaalkaskaadide vastu suunatud ravimite tõhususe testimisele kontrollitud katsetes.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Disease Papillaarkartsinoom

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

Omadused

Age 69 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadne. Ultrastruktuursete tunnuste hulka kuuluvad mikrovillid ja mikrofilamendid. Vähesed mitokondrid, lüsoosoomid või lipiidipisarad. Sagedased multilamellulaarsed kehad. Viiruseosakesi ei ole.

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Caki-2 rakud | 300140

Citation	Caki-2 (Cytioni katalooginumber 300140)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0235

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, fenotüübi sagedustode: 0.0511
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel. Moodustab selge rakukartsinoomi
Karyotype	(P8) hüpopentaploidne kuni hüpoheksaploidne (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A), millel on kõrvalekaldeid, sealhulgas ditsentrilised, akrotsentrilised fragmendid, minutid, katkestused ja suured subtelotsentrilised markerid

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10 ⁴ rakku/cm ² annab umbes 4 päeva jooksul 90% konfluentse monokihi.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x 10 ⁴ rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Caki-2 rakud | 300140**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Caki-2 rakud | 300140

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.