

Caki-1 rakud | 300149

Üldine teave

Description

Caki-1 rakuliin on saadud inimese neeru selge rakulise kartsinoomi metastaatilisesest asukohast. Caki-1 rakke, mis on saadud meessoost patsiendi neeruveeni seinas paiknevast kasvajast, kasutatakse tavaliselt neeruvähi bioloogia uurimisel, eriti selge rakulise neerukartsinoomi (ccRCC) aluseks olevate mehhanismide mõistmiseks. See rakuliin on morfoloogiliselt epiteelilaadne ja sellel on tugevad in vitro kasvuomadused, mistõttu sobib see mitmesuguste katsemeetodite, sealhulgas ravimite skriiningu ja molekulaarbioloogiliste uuringute jaoks.

Caki-1 on eriti tähelepanuväärne oma keerulise karüotüübi poolest, mida iseloomustab 68 kromosoomi modaalne arv, mille varieeruvus ulatub 63-st kuni 71-ni. See aneuploidne kromosoomikonfiguratsioon rõhutab triploidset vahemikku koos teatavate kõrvalekalletega; eelkõige puudub Y-kromosoom, mis ei ole ebatavaline meestelt pärinevate kasvajakude liinide puhul. Rakuliinil on mitmeid kromosomiaberratsioone, sealhulgas mitu markerkromosoomi ja muutused kromosoomides N5, N9, N10, N16 ja N19, mis aitab kaasa selle kasulikkusele vähiuuringutes.

Tumorigeensuse osas on Caki-1 võimeline moodustama alasti hiirtel kasvajaid ja on teatatud, et see tekitab järjekindlalt selgepiirilist kartsinoomi, mis peegeldab neeru primaarse kasvaja patoloogiat. See omadus muudab selle hindamatuks mudeliks neeruvähi metastaaside ja tuumori bioloogia in vivo uuringutes. Katseliselt on täheldatud ka rakuliini metastaseerumist nahale. Biokeemilisest seisukohast ekspresseerib Caki-1 mitmesuguseid isoensüüme ja antigeene, sealhulgas veregruppi O, Rh- ja HLA-tüüpe A9, B12, Bw35. Isoensüümide profiil hõlmab AK-1, ES-D, G6PD B, GLO-I, Me-2, PGM1 ja PGM3, mis võivad olla olulised vähi progressseerumise ja ravivastusega seotud raku metabolismi ja geneetilise ekspressiooni uuringutes.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Disease Selverakk-kartsinoom

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

Omadused

Age 49 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Caki-1 rakud | 300149

Regulatiivsed andmed

Citation	Caki-1 (Cytioni katalooginumber 300149)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0234

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel
--------------------	---------------------

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
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	Soovitav on 2×10^4 rakku/cm ² .
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüsosäilitusvedelikusena 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.

Caki-1 rakud | 300149

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

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

Caki-1 rakud | 300149

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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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

HLA alleles

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