

Cellule Caki-2 | 300140**Informazioni generali****Description**

Il Caki-2 è una linea cellulare umana di carcinoma renale a cellule chiare (ccRCC) che presenta una morfologia epiteliale e aderisce in condizioni di coltura in vitro. È un modello preclinico essenziale per lo studio dei meccanismi del carcinoma renale e delle risposte terapeutiche. La linea Caki-2 si distingue in particolare per la sua resistenza ad alcuni agenti chemioterapici; mostra una minore sensibilità al 5-fluorouracile e all'inibitore multichinasico sorafenib, che ha come bersaglio i VEGFR 1-3, il PDGFR-b e il Raf-1, rispetto alla linea cellulare Caki-1. Questa sensibilità differenziale è significativa per studiare i meccanismi di resistenza ai farmaci e valutare nuove strategie terapeutiche nel carcinoma a cellule renali.

Il background genetico delle cellule Caki-2 comprende una mutazione con perdita di funzione nella proteina soppressore tumorale von Hippel-Lindau (VHL), un segno distintivo di molti ccRCC che porta alla deregolazione dei fattori inducibili dall'ipossia (HIF) e contribuisce alla tumorigenesi. La capacità delle cellule Caki-2 di formare tumori in topi immunocompromessi le rende uno strumento prezioso per gli studi in vivo della crescita e della metastasi del cancro, fornendo approfondimenti sull'ambiente tumorale e sui potenziali interventi terapeutici. Il loro uso si estende all'esplorazione del ruolo di VHL nella progressione del cancro e alla verifica dell'efficacia di farmaci che mirano alla via HIF e ad altre cascate di segnalazione associate in una configurazione sperimentale controllata.

Organism

Umano

Tissue

Rene

Disease

Carcinoma papillare

Synonyms

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

Caratteristiche**Age**

69 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Caucasico

Morphology

Simile all'epitelio. Le caratteristiche ultrastrutturali includono microvilli e microfilamenti. Pochi mitocondri, lisosomi o goccioline lipidiche. Frequenti corpi multilamellari. Assenza di particelle virali.

Growth properties

Monostrato, aderente

Dati normativi

Cellule Caki-2 | 300140**Citation** Caki-2 (numero di catalogo Cytion 300140)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0235**Dati biomolecolari****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Prodotto di frequenza del fenotipo: 0.0511**Tumorigenic** Sì, in topi nudi. Forma un carcinoma a cellule chiare**Karyotype** (P8) da ipopentaploide a ipoesaploide (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) con anomalie che includono dicentrici, frammenti acrocentrici, minuti, rotture e grandi marcatori subtelocentrici**Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:3 a 1:6**Seeding density** 1×10^4 cellule/cm² darà luogo a un monostrato confluyente al 90% in circa 4 giorni.**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

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

Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

**Freeze
medium**

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Cellule Caki-2 | 300140**Freezing
Procedure**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Storage
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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