

Caki-2 ląstelės | 300140

Bendra informacija

Description

Caki-2 yra žmogaus šviesių ląstelių inkstų ląstelių karcinomos (ccRCC) ląstelių linija, kuriai būdinga epitelio morfologija ir kuri in vitro kultūrų sąlygomis yra lipni. Ji yra svarbus ikikliniškas modelis inkstų vėžio mechanizms ir terapiniam atsakui tirti. Caki-2 linija ypač išsiskiria atsparumu tam tikriems chemoterapiniams preparatams; palyginti su Caki-1 ląstelių linija, ji mažiau jautri 5-fluorouracilui ir daugiaakcinazės inhibitoriui sorafenibui, kuris veikia VEGFR 1-3, PDGFR-b ir Raf-1. Šis skirtingas jautrumas yra svarbus tiriant atsparumo vaistams mechanizmus ir vertinant naujas inkstų ląstelių karcinomos gydymo strategijas.

Caki-2 ląstelių genetiniame fone yra von Hippel-Lindau (VHL) naviką slopinančio baltymo funkcijos praradimo mutacija, būdinga daugeliui ccRCC, dėl kurios sutrinka hipoksiją indukuojančių veiksnių (HIF) reguliacija ir prisideda prie naviko genezės. Caki-2 ląstelių gebėjimas formuoti navikus imunokompromituotose pelėse daro jas vertingu vėžio augimo ir metastazių in vivo tyrimų įrankiu, suteikiančiu galimybę susipažinti su naviko aplinka ir galimomis terapinėmis intervencijomis. Jų panaudojimas apima ir VHL vaidmens vėžio progresavimui tyrimą bei vaistų, nukreiptų į HIF kelią ir kitas susijusias signalų kaskadas, veiksmingumo tikrinimą kontroliuojamoje eksperimentinėje aplinkoje.

Organism Žmogus

Tissue Inkstai

Disease Papiliarinė karcinoma

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

Charakteristikos

Age 69 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukazių

Morphology Panašus į epitelį. Ultrastruktūriniai požymiai: mikroviliukai ir mikrofilamentai. Mažai mitochondrijų, lizosomų ar lipidų lašelių. Dažni multilamelariniai kūneliai. Nėra viruso dalelių.

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Caki-2 ląstelės | 300140**Citation** Caki-2 (Cytion katalogo numeris 300140)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0235**Biomolekuliniai duomenys****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotipo dažnio produktas: 0.0511**Tumorigenic** Taip, nuogoms pelėms. Formuojasi šviesiųjų ląstelių karcinoma**Karyotype** (P8) nuo hipopentaploidinių iki hipoheksaploidinių (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) su anomalijomis, įskaitant dicentrikus, akrocentrinus fragmentus, minutes, lūžius ir dideles subtelocentrines žymes**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm² per maždaug 4 dienas sudarys 90 % konfluentinį monosluoksni.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigausti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

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

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Caki-2 ląstelės | 300140

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.