

Caki-2 šūnas | 300140

Vispārīga informācija

Description

Caki-2 ir cilvēka gaiššūnu nierakmeņu karcinomas (ccRCC) šūnu līnija, kurai ir epitēlija morfolģija un kura in vitro kultūras apstākļos adherē. Tā kalpo kā būtisks preklīniskais modelis nieru vēža mehānismu un terapeitiskās atbildes reakcijas izpētei. Caki-2 līnija īpaši izceļas ar rezistenci pret noteiktiem ķīmijterapeitiskiem līdzekļiem; salīdzinājumā ar Caki-1 šūnu līniju tā ir mazāk jutīga pret 5-fluoruracilu un multi-kināzes inhibitoru sorafenibu, kas ir vērsts pret VEGFR 1-3, PDGFR-b un Raf-1. Šī atšķirīgā jutība ir nozīmīga zāļu rezistences mehānismu izpētei un jaunu terapeitisko stratēģiju novērtēšanai nieru šūnu karcinomas gadījumā.

Caki-2 šūnu ģenētiskais fons ietver von Hippel-Lindau (VHL) audzēja supresora proteīna funkciju zaudējušu mutāciju, kas ir raksturīga daudziem ccRCC, kas izraisa hipoksiju inducējošo faktoru (HIF) deregulāciju un veicina audzēju veidošanos. Caki-2 šūnu spēja veidot audzējus imūnkompromitētās pelēs padara tās par vērtīgu rīku vēža augšanas un metastāžu pētījumiem in vivo, sniedzot ieskatu par audzēja vidi un iespējamiem terapeitiskiem pasākumiem. Tās var izmantot, pētot VHL lomu vēža progresēšanā un pārbaudot HIF ceļu un citas saistītās signalizācijas kaskādes kontrolētā eksperimentālā vidē.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Disease Papilārā karcinoma

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

Raksturojums

Age 69 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs. Ultrastrukturālās iezīmes ietver mikrovilus un mikrofilamentus. Maz mitohondriju, lizosomu vai lipīdu pilienu. Bieži multilamelāri ķermeņi. Nav vīrusa daļiņu.

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation Caki-2 (Cytion kataloga numurs 300140)

Caki-2 šūnas | 300140

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0235**Biomolekulārie dati****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotipu biežuma produkts: 0.0511**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm. Veido gaiššūnu karcinomu**Karyotype** (P8) hipopentaploīds līdz hipoheksaploīds (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) ar anomālīgām, tostarp dicentriķiem, acrocentriskiem fragmentiem, minūtēm, pārtraukumiem un lieliem subtelocentriskiem marķieriem**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm² radīs 90 % konfluentu monoslāni aptuveni 4 dienu laikā.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

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

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Caki-2 šūnas | 300140

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.