

Caki-1-celler | 300149**Generell informasjon****Description**

Caki-1-cellelinjen er avledet fra et metastatisk område av et humant klarcellet nyrecellekarsinom. Caki-1-cellene ble etablert fra en svulst lokalisert i veggen i en nyrevene hos en mannlig pasient, og de brukes ofte i studier av nyrekreftbiologi, spesielt for å forstå mekanismene som ligger til grunn for klarcellet nyrecellekarsinom (ccRCC). Denne cellelinjen har en epitel-lignende morfologi og robuste in vitro-vekstegenskaper, noe som gjør den egnet for en rekke eksperimentelle teknikker, blant annet screening av legemidler og molekylærbiologiske studier.

Caki-1 er spesielt kjent for sin komplekse karyotype, som kjennetegnes av et modalt kromosomtall på 68, med variasjoner fra 63 til 71. Denne aneuploide kromosomkonfigurasjonen fremhever et triploid område med visse abnormiteter; spesielt er Y-kromosomet fraværende, noe som ikke er uvanlig i svulstcellelinjer avledet fra menn. Cellelinjen viser flere kromosomavvik, inkludert flere markørkromosomer og endringer i kromosomene N5, N9, N10, N16 og N19, noe som bidrar til at den er nyttig i kreftforskning.

Når det gjelder tumorigenitet, er Caki-1 i stand til å danne svulster i nakne mus, og det er rapportert at den konsekvent produserer klarcellet karsinom, noe som gjenspeiler patologien til den primære nyretumoren. Denne egenskapen gjør den til en uvurderlig modell for in vivo-studier av nyrekreftmetastaser og tumorbiologi. Cellelinjen har også vist seg å metastasere til huden i eksperimentelle forsøk. Fra et biokjemisk perspektiv uttrykker Caki-1 en rekke isoenzymer og antigener, inkludert blodtype O, Rh- og HLA-typene A9, B12 og Bw35. Isoenzymprofilen omfatter AK-1, ES-D, G6PD B, GLO-I, Me-2, PGM1 og PGM3, som kan være relevante i studier av cellulær metabolisme og genetisk uttrykk i forbindelse med kreftutvikling og respons på behandling.

Organism

Menneskelig

Tissue

Nyre

Disease

Klarcellet karsinom

Synonyms

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

Kjennetegn**Age**

49 år

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Caki-1-celler | 300149**Citation** Caki-1 (Cytion katalognummer 300149)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0234**Biomolekylære data****Tumorigenic** Ja, i nakne mus**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:6 anbefales**Seeding density** 2×10^4 celler/cm² anbefales**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Caki-1-celler | 300149**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Caki-1-celler | 300149**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11
D13S317: 11,12
D16S539: 12
D5S818: 11,12
D7S820: 8,12
TH01: 6,8
TPOX: 8,11
vWA: 15,17
D3S1358: 17
D21S11: 28,30
D18S51: 14
Penta E: 22,23
Penta D: 11,12
D8S1179: 12,14
FGA: 26

HLA-alleler

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