

**Komórki Caki-2 | 300140****Informacje ogólne****Description**

Caki-2 to ludzka linia komórek raka jasnokomórkowego nerki (ccRCC), która wykazuje morfologię nabłonkową i przylega w warunkach hodowli in vitro. Służy jako istotny model przedkliniczny do badania mechanizmów raka nerki i odpowiedzi terapeutycznych. Linia Caki-2 jest szczególnie godna uwagi ze względu na swoją oporność na niektóre środki chemioterapeutyczne; wykazuje zmniejszoną wrażliwość na 5-fluorouracyl i inhibitor wielu kinaz sorafenib, który jest ukierunkowany na VEGFR 1-3, PDGFR-b i Raf-1, w porównaniu z linią komórkową Caki-1. Ta zróżnicowana wrażliwość jest istotna dla badania mechanizmów oporności na leki i oceny nowych strategii terapeutycznych w raku nerkowokomórkowym.

Tło genetyczne komórek Caki-2 obejmuje mutację utraty funkcji białka supresorowego nowotworu von Hippel-Lindau (VHL), cechę charakterystyczną wielu ccRCC, która prowadzi do deregulacji czynników indukowanych hipoksją (HIF) i przyczynia się do nowotworzenia. Zdolność komórek Caki-2 do tworzenia guzów u myszy z obniżoną odpornością czyni je cennym narzędziem do badań in vivo nad wzrostem nowotworu i przerzutami, zapewniając wgląd w środowisko guza i potencjalne interwencje terapeutyczne. Ich zastosowanie rozciąga się na badanie roli VHL w progresji raka i testowanie skuteczności leków ukierunkowanych na szlak HIF i inne powiązane kaskady sygnalizacyjne w kontrolowanym układzie eksperymentalnym.

**Organism** Człowiek**Tissue** Nerka**Disease** Rak brodawkowy**Synonyms** CAKI-2, CaKi-2, caki-2, CAKI 2, Caki 2, Caki2, CAKI2**Charakterystyka****Age** 69 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka. Cechy ultrastrukturalne obejmują mikrokosmki i mikrofilamenty. Niewiele mitochondriów, lizosomów lub kropelek lipidów. Częste ciątka wielokomórkowe. Brak cząstek wirusa.**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne**

**Komórki Caki-2 | 300140****Citation** Caki-2 (numer katalogowy Cytion 300140)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0235**Dane biomolekularne****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotyp Częstotliwość Produkt: 0.0511**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy. Tworzy raka jasnokomórkowego**Karyotype** (P8) hipopentaploidalne do hipoheksaploidalnych (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) z nieprawidłowościami obejmującymi dicentryczne, akrocentryczne fragmenty, minuty, przerwy i duże znaczniki subtelocentryczne**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6**Seeding density**  $1 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> spowoduje powstanie 90% zlewającej się monowarstwy w ciągu około 4 dni.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

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

Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

## Komórki Caki-2 | 300140

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil 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