

Komórki Caki-1 | 300149**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Caki-1 pochodzi z przerzutowego miejsca ludzkiego raka jasnokomórkowego nerki. Uzyskane z guza zlokalizowanego w ścianie żyły nerkowej mężczyzny, komórki Caki-1 są powszechnie wykorzystywane w badaniach nad biologią raka nerki, zwłaszcza w zrozumieniu mechanizmów leżących u podstaw raka jasnokomórkowego nerki (ccRCC). Ta linia komórkowa jest morfologicznie podobna do nabłonka i wykazuje silne właściwości wzrostu in vitro, dzięki czemu nadaje się do różnych technik eksperymentalnych, w tym badań przesiewowych leków i badań biologii molekularnej.

Caki-1 jest szczególnie godny uwagi ze względu na złożony kariotyp, charakteryzujący się modalną liczbą chromosomów wynoszącą 68, z wariantami wahającymi się od 63 do 71. Ta aneuploidalna konfiguracja chromosomów podkreśla zakres triploidalny z pewnymi nieprawidłowościami; w szczególności chromosom Y jest nieobecny, co nie jest niczym niezwykłym w liniach komórkowych nowotworów pochodzących od mężczyzn. Linia komórkowa wykazuje kilka aberracji chromosomalnych, w tym wiele chromosomów markerowych i zmiany w chromosomach N5, N9, N10, N16 i N19, co przyczynia się do jej użyteczności w badaniach nad rakiem.

Pod względem nowotworowości, Caki-1 jest zdolny do tworzenia guzów u nagich myszy i konsekwentnie wytwarza raka jasnokomórkowego, odzwierciedlając patologię pierwotnego guza nerki. Ta cecha sprawia, że jest to nieoceniony model do badań in vivo nad przerzutami raka nerki i biologią nowotworów. Zaobserwowano również, że linia komórkowa daje przerzuty do skóry w warunkach eksperymentalnych. Z biochemicznego punktu widzenia, Caki-1 wykazuje ekspresję różnych izoenzymów i antygenów, w tym grupy krwi O, Rh- i HLA typu A9, B12, Bw35. Profilowanie izoenzymów obejmuje AK-1, ES-D, G6PD B, GLO-I, Me-2, PGM1 i PGM3, które mogą być istotne w badaniach metabolizmu komórkowego i ekspresji genetycznej związanej z progresją raka i odpowiedzią na leczenie.

Organism Człowiek**Tissue** Nerka**Disease** Rak jasnokomórkowy**Synonyms** CAKI-1, CaKi-1, caki-1, CAKI.1, CAKI 1, CAKI1, Caki1**Charakterystyka****Age** 49 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka

Komórki Caki-1 | 300149

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation Caki-1 (numer katalogowy Cytion 300149)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0234

Dane biomolekularne

Tumorigenic Tak, u nagich myszy

Obsługa

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

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. Odrzuć 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 Zalecane jest 2×10^4 komórek/cm².

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki Caki-1 | 300149**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² 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% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki Caki-1 | 300149

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 fiołki 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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,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

Komórki Caki-1 | 300149

Allele HLA

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