

Bunky Caki-2 | 300140**Všeobecné informácie****Description**

Caki-2 je ľudská bunková línia svetlobunkového karcinómu obličky (ccRCC), ktorá vykazuje epitelovú morfológiu a prilieha počas kultivácie in vitro. Slúži ako základný predklinický model na skúmanie mechanizmov rakoviny obličiek a terapeutických reakcií. Línia Caki-2 sa vyznačuje najmä rezistenciou voči niektorým chemoterapeutickým látkam; v porovnaní s bunkovou líniou Caki-1 vykazuje zníženú citlivosť na 5-fluóruracil a multikinázový inhibítor sorafenib, ktorý je zameraný na VEGFR 1-3, PDGFR-b a Raf-1. Táto rozdielna citlivosť je významná pre štúdium mechanizmov rezistencie na lieky a hodnotenie nových terapeutických stratégií pri karcinóme obličiek.

Genetické pozadie buniek Caki-2 zahŕňa stratu funkčnej mutácie vo von Hippel-Lindauovom (VHL) tumor supresorovom proteíne, čo je charakteristický znak mnohých ccRCC, ktorý vedie k deregulácii hypoxiou indukovaných faktorov (HIF) a prispieva k tumorigenéze. Schopnosť buniek Caki-2 vytvárať nádory v imunokompromitovaných myšiach z nich robí cenný nástroj na in vivo štúdie rastu a metastázovania rakoviny, ktorý poskytuje pohľad na nádorové prostredie a potenciálne terapeutické zásahy. Ich využitie sa rozširuje na skúmanie úlohy VHL v progresii rakoviny a testovanie účinnosti liekov zameraných na dráhu HIF a ďalšie súvisiace signálne kaskády v kontrolovanom experimentálnom usporiadaní.

Organism Ľudské**Tissue** Obličky**Disease** Papilárny karcinóm**Synonyms** CAKI-2, CaKi-2, caki-2, CAKI 2, Caki 2, Caki2, CAKI2**Charakteristika****Age** 69 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Epiteliálne podobné. Ultraštruktúrne znaky zahŕňajú mikrokľky a mikrofilamenty. Málo mitochondrií, lyzozómov alebo lipidových kvapôčok. Časté multilamelárne telieska. Žiadne vírusové častice.**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje**

Bunky Caki-2 | 300140**Citation** Caki-2 (katalógové číslo Cytion 300140)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0235**Biomolekulárne údaje****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, produkt frekvencie fenotypu: 0.0511**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach. Vytvára svetlobunkový karcinóm**Karyotype** (P8) hypopentaploidné až hypohehexaploidné (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) s abnormalitami vrátane dicentrických, akrocentrických fragmentov, minút, zlomov a veľkých subtelocentrických markerov**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výroby Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1×10^4 buniek/cm² bude mať za následok 90 % konfluentnú monovrstvu za približne 4 dni.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

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

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky Caki-2 | 300140

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.