

**Celice Caki-2 | 300140****Splošne informacije****Description**

Caki-2 je človeška celična linija svetloceličnega ledvičnega karcinoma (ccRCC), ki ima epiteljsko morfologijo in se v pogojih gojenja in vitro oprijema. Uporablja se kot pomemben predklinični model za raziskovanje mehanizmov ledvičnega raka in terapevtskih odzivov. Linija Caki-2 je še posebej značilna po svoji odpornosti na nekatera kemoterapevtska zdravila; v primerjavi s celično linijo Caki-1 je manj občutljiva na 5-fluorouracil in večkinazni inhibitor sorafenib, ki deluje na VEGFR 1-3, PDGFR-b in Raf-1. Ta različna občutljivost je pomembna za preučevanje mehanizmov odpornosti na zdravila in ocenjevanje novih terapevtskih strategij pri karcinomu ledvičnih celic.

Genetsko ozadje celic Caki-2 vključuje mutacijo izgube funkcije v tumorskem supresorskem proteinu von Hippel-Lindau (VHL), ki je značilna za številne ccRCC in povzroča deregulacijo hipoksijo inducirajočih dejavnikov (HIF) ter prispeva k tumorigenezi. Zaradi sposobnosti celic Caki-2, da tvorijo tumorje v imunsko oslavljenih miših, so dragoceno orodje za študije rasti in metastaziranja raka in vivo, kar omogoča vpogled v tumorsko okolje in morebitne terapevtske posege. Njihova uporaba je razširjena na raziskovanje vloge VHL pri napredovanju raka in preizkušanje učinkovitosti zdravil, usmerjenih proti poti HIF in drugim povezanim signalnim kaskadam, v nadzorovani eksperimentalni postavitvi.

**Organism** Človek**Tissue** Ledvice**Disease** Papilarni karcinom**Synonyms** CAKI-2, CaKi-2, caki-2, CAKI 2, Caki 2, Caki2, CAKI2**Značilnosti****Age** 69 let**Gender** Moški**Ethnicity** Kavkaški**Morphology** Podoben epiteljskemu. Ultrastrukturalne značilnosti vključujejo mikrovile in mikrofilamente. Malo mitohondrijev, lizosomov ali lipidnih kapljic. Pogosta multilamelarna telesca. Ni virusnih delcev.**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki**

**Celice Caki-2 | 300140****Citation** Caki-2 (kataloška številka Cytion 300140)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0235**Biomolekularni podatki****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotip Pogostost izdelka: 0.0511**Tumorigenic** Da, na golih miših. Oblikuje svetlocelični karcinom**Karyotype** (P8) hipopentaploidni do hipoheksaploidni (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) z nepravilnostmi, vključno z dicentriki, akrocentričnimi fragmenti, minutami, prekinitvami in velikimi subteloцентриčnimi označevalci**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup> bo v približno 4 dneh povzročilo 90 % konfluentno monoslojno plast.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti  $5 \times 10^4$  cel<sup>ic</sup>/cm<sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

## Celice Caki-2 | 300140

### Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## Celice Caki-2 | 300140

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.