

Клетки CaSki | 300145

Обща информация

Description

CaSki е клетъчна линия с епителна морфология, изолирана от шийката на матката на 40-годишна бяла пациентка с епидермоиден карцином. Създаването на тази клетъчна линия осигурява важен модел за изследване на рака на маточната шийка, особено в контекста на HPV-медираната онкогенеза. Клетките CaSki се характеризират със способността си да реплицират ДНК на HPV16, която се интегрира в генома на гостоприемника, предлагайки поглед върху жизнения цикъл на вируса и ролята му в злокачествената трансформация.

Тези клетки са важен ресурс в изследванията на рака, особено за проучвания, насочени към патогенезата на HPV-асоциирания рак на маточната шийка. Наличието на високорисков HPV16 в CaSki клетките улеснява изследването на функциите на вирусните онкогени, по-специално на протеините E6 и E7 и взаимодействието им с клетъчните туморсупресорни пътища, включително тези, включващи p53 и pRB. Този аспект прави CaSki клетките безценни за оценка на потенциални терапевтични цели и разработване на интервенции, насочени към HPV-индуцирани злокачествени заболявания.

Organism

Човек

Tissue

Цервикс

Disease

Карцином

Metastatic site

Цервикс

Synonyms

Ca-Ski, Ca Ski, Caski, CASKI

Характеристики

Age

40 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Подобни на епител

Cell type

Епидермоиден

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки CaSki | 300145

Citation CaSki (каталожен номер 300145 на Cytion)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1100

Биомолекулярни данни

Isoenzymes G6PD, B

Products Бета субединица на hCG, антиген, свързан с тумора

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm² ще доведе до конфлуентен монослой в рамките на 3 до 4 дни.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, разположете клетките на 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за поне 48 часа.

Клетки CaSki | 300145

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки CaSki | 300145**Freezing Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA**Sterility**

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '03:01:01
B*: '07:02:01, '37:01:01
C*: '07:02:01
DRB1*: '08:01:01G, '15:01:01G
DQA1*: '01:02:01, '04:02
DQB1*: '04:02:01, '06:02:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:03:02