

CaSki rakud | 300145

Üldine teave

Description

CaSki on epiteelilise morfoloogiaga rakuliin, mis on isoleeritud 40-aastase valge naisterahva epidermoidkartsinoomiga emakakaelast. Selle rakuliini loomine annab kriitilise mudeli emakakaelavähi uurimiseks, eriti HPV-vahendatud onkogeneesi kontekstis. CaSki rakke iseloomustab nende võime paljundada HPV16 DNA-d, mis integreerub peremehe genoomi, andes ülevaate viiruse elutsüklist ja selle rollist pahaloomulises transformatsioonis.

Need rakud on oluline ressurss vähiuuringutes, eriti HPV-ga seotud emakakaelavähi patogeneesile keskenduvates uuringutes. Kõrge riskiga HPV16 esinemine CaSki rakkudes hõlbustab viirusliku onkogeeni funktsioonide, eelkõige E6 ja E7 valkude ja nende koostoimete uurimist raku kasvajasupressorite, sealhulgas p53 ja pRB rakkude vahel. See aspekt muudab CaSki rakud hindamatuks võimalike terapeutiliste sihtmärkide hindamisel ja HPV põhjustatud pahaloomuliste haiguste vastu suunatud sekkumiste väljatöötamisel.

Organism Inimene

Tissue Emakakael

Disease Kartsinoom

Metastatic site Emakakael

Synonyms Ca-Ski, Ca Ski, Caski, CASKI

Omadused

Age 40 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Cell type Epidermoid

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

CaSki rakud | 300145

Citation CaSki (Cytioni katalooginumber 300145)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1100

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes G6PD, B

Products HCG beeta-alaühik, kasvajaga seotud antigeen

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm² annab 3-4 päeva jooksul tulemuseks konfluentse monokihi.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 48 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

CaSki rakud | 300145

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

CaSki rakud | 300145

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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