

"CaSki" ląstelės | 300145**Bendra informacija****Description**

CaSki yra epitelio morfologiją turinti ląstelių linija, išskirta iš epidermoidine karcinoma sergančios 40 metų baltosios lyties pacientės gimdos kaklelio. Sukūrus šią ląstelių liniją, sukurtas labai svarbus modelis gimdos kaklelio vėžiui tirti, ypač ŽPV sukeltos onkogenės kontekste. CaSki ląstelėms būdingas gebėjimas replikuoti ŽPV16 DNR, kuri integruojasi į šeiminko genomą, ir tai leidžia suprasti viruso gyvavimo ciklą ir jo vaidmenį piktybinei transformacijai.

Šios ląstelės yra svarbus šaltinis vėžio tyrimuose, ypač tyrimuose, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama su ŽPV susijusio gimdos kaklelio vėžio patogenezėi. Didelės rizikos ŽPV16 buvimas CaSki ląstelėse palengvina viruso onkogeno funkcijų, ypač E6 ir E7 baltymų, ir jų sąveikos su ląstelių naviko slopinimo keliais, įskaitant tuos, kuriuose dalyvauja p53 ir pRB, tyrimą. Dėl šio aspekto CaSki ląstelės yra neįkainojamos vertinant galimus terapinius taikinius ir kuriant intervencines priemones, skirtas ŽPV sukeltiems piktybiniam navikams gydyti.

Organism Žmogus**Tissue** Gimdos kaklelis**Disease** Karcinoma**Metastatic site** Gimdos kaklelis**Synonyms** Ca-Ski, Ca Ski, Caski, CASKI**Charakteristikos****Age** 40 metų**Gender** Moteris**Ethnicity** Kaukazičių**Morphology** | epitelį panašus**Cell type** Epidermoidinis**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys**

"CaSki" ląstelės | 300145**Citation** CaSki (Cytion katalogo numeris 300145)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1100**Biomolekuliniai duomenys****Isoenzymes** G6PD, B**Products** Beta hCG subvienetas, su naviku susijęs antigenas**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm² per 3-4 dienas suformuos konfluentinį monosluoksnį.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 48 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

"CaSki" ląstelės | 300145**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

"CaSki" ląstelės | 300145

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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