

CaSki šūnas | 300145

Vispārīga informācija

Description

CaSki ir šūnu līnija ar epitēlija morfoloģiju, kas izolēta no dzemdes kakla no 40 gadus vecas baltās sievietes, kurai bija epidermoīdā karcinoma. Šīs šūnu līnijas izveide nodrošina būtisku modeli dzemdes kakla vēža izpētei, jo īpaši saistībā ar HPV mediēto onkoģenēzi. CaSki šūnām raksturīga spēja replicēt HPV16 DNS, kas tiek integrēta saimnieka genomā, sniedzot ieskatu vīrusa dzīves ciklā un tā lomā ļaundabīgā pārveidē.

Šīs šūnas ir būtisks resurss vēža pētniecībā, jo īpaši pētījumos, kas vērsti uz dzemdes kakla kakla vēža, kas saistīts ar HPV, patoģenēzi. Augsta riska HPV16 klātbūtne CaSki šūnās atvieglo vīrusa onkoģēna funkciju izpēti, jo īpaši E6 un E7 proteīnu un to mijiedarbības ar šūnu audzēja supresoru ceļiem, tostarp ar p53 un pRB. Šis aspekts padara CaSki šūnas nenovērtējamas, lai novērtētu potenciālos terapeitiskos mērķus un izstrādātu pasākumus, kas vērsti uz HPV izraisītu ļaundabīgu audzēju apkarošanu.

Organism Cilvēks

Tissue Dzemdes kakls

Disease Karcinoma

Metastatic site Dzemdes kakls

Synonyms Ca-Ski, Ca Ski, Caski, CASKI

Raksturojums

Age 40 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Cell type Epidermoīdā

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation CaSki (Cytion kataloga numurs 300145)

CaSki šūnas | 300145

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1100**Biomolekulārie dati****Isoenzymes** G6PD, B**Products** HCG beta apakšvienība, ar audzēju saistīts antigēns**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm² izveidos konfluentu monoslāni 3 līdz 4 dienu laikā.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 48 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

CaSki šūnas | 300145

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

CaSki šūnas | 300145

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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