

Komórki CaSki | 300145**Informacje ogólne****Description**

CaSki to linia komórkowa wykazująca morfologię nabłonkową, wyizolowana z szyjki macicy 40-letniej białej pacjentki z rakiem naskórka. Ustanowienie tej linii komórkowej zapewnia krytyczny model do badania raka szyjki macicy, szczególnie w kontekście onkogenezy, w której pośredniczy HPV. Komórki CaSki charakteryzują się zdolnością do replikacji DNA HPV16, które jest zintegrowane z genomem gospodarza, oferując wgląd w cykl życia wirusa i jego rolę w transformacji nowotworowej.

Komórki te są niezbędnym zasobem w badaniach nad rakiem, szczególnie w badaniach skupiających się na patogenezie raka szyjki macicy związanego z HPV. Obecność wirusa HPV16 wysokiego ryzyka w komórkach CaSki ułatwia badanie funkcji onkogenów wirusowych, w szczególności białek E6 i E7 oraz ich interakcji z komórkowymi szlakami supresorowymi nowotworów, w tym tymi obejmującymi p53 i pRB. Ten aspekt sprawia, że komórki CaSki są nieocenione w ocenie potencjalnych celów terapeutycznych i opracowywaniu interwencji ukierunkowanych na nowotwory złośliwe wywołane przez HPV.

Organism Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Rak**Metastatic site** Szyjka macicy**Synonyms** Ca-Ski, Ca Ski, Caski, CASKI**Charakterystyka****Age** 40 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka**Cell type** Epidermoid**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki CaSki | 300145**Citation** CaSki (numer katalogowy Cytion 300145)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1100**Dane biomolekularne****Isoenzymes** G6PD, B**Products** Podjednostka beta hCG, antygen związany z nowotworem**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:4**Seeding density** 1×10^4 komórek/cm² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 3 do 4 dni.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Komórki CaSki | 300145**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki CaSki | 300145

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10
D13S317: 8,12
D16S539: 11,12
D5S818: 13
D7S820: 8,11
TH01: 7
TPOX: 8
vWA: 17
D3S1358: 15
D21S11: 30
D18S51: 17
D8S1179: 15
FGA: 21
D2S1338: 21
D19S433: 15,16

Komórki CaSki | 300145

Allele HLA

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