

Клетки CERV-196 | 300291

Обща информация

Description

Клетъчната линия MRI-H196, получена от HPV16-позитивен цервикален карцином, показва уникален профил на експресия на HPV16 транскрипта, характеризиращ се с наличие на транскрипта L1 с пълна дължина и подчертано отсъствие на РНК с пълна дължина E5. Този модел предполага интегриране на генома на HPV16 в рамките на клетъчната линия, което засяга по-специално областта E2 и води до пренареждане на ДНК последователността L1. Липсата на експресия на РНК с пълна дължина E5 показва нарушение в транскрипцията на ранните РНК с пълна дължина, които обикновено завършват при сигнала за полиаденилиране, разположен след отворената рамка за четене (ORF) на E5. Такова нарушение е показателно за интегрираното състояние на геномите на HPV16, при което ключовият регион E2 - ключов за вирусната репликация и регулацията на транскрипцията - често е нарушен по време на интеграцията в генома на гостоприемника. Това прекъсване потенциално влияе върху експресията на гените надолу по веригата, включително E5.

Този феномен на интегриране в клетките MRI-H196 подчертава сложността на поведението на HPV16 генома след интегрирането, като подчертава полезността на клетъчната линия за изучаване на геномните и транскрипционните тънкости, свързани с интегрирането на HPV в карциномите на маточната шийка. Разбирането на тази динамика е от решаващо значение за опознаване на механизмите на онкогенезата и прогресията на HPV-свързаните ракови заболявания, което прави клетъчната линия MRI-H196 ценен ресурс за медицински и биологични изследвания.

Organism

Човек

Tissue

Цервикс

Disease

Плоскоклетъчен карцином

Synonyms

Cerv-196, MRI-H-196, MRI-H196

Характеристики

Age

49 години

Gender

Жена

Ethnicity

Африкански

Morphology

Подобни на епител

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Клетки CERV-196 | 300291

Citation	CERV-196 (каталожен номер 300291 на Cytion)
-----------------	---

Biosafety level	2
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_5721
-----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да, при голи мишки
--------------------	--------------------

Viruses	HPV-16 положителен
----------------	--------------------

Products	Цитокератин 8, 18, виментин
-----------------	-----------------------------

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
-----------------------	---

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	Препоръчва се 1×10^4 клетки/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
---------------------------	---

Клетки CERV-196 | 300291

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 антимикробен 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

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки CERV-196 | 300291**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 микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

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

HLA алели

A*: '02:xx, '03:01:01
B*: '07:02:01, '51:01:01G
C*: '07:02:01, '15:02:01
DRB1*: '07:01:01, '09:01:02G
DQA1*: '02:01:01, '03:02:01
DQB1*: '02:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:02:01, '11:01:01
E: '01:03:02