

Клетки CERV-186 | 300290

Обща информация

Description

Клетъчната линия CERV-186, получена in vitro от ксенотрансплантация на цервикален карцином MRI-H-186, служи като биологичен модел за инвазивен, едроклетъчен, некератинизиращ плоскоклетъчен карцином. Тази клетъчна линия е създадена и адаптирана за in vivo трансплантация под ръководството на д-р Бодген в Изследователския институт Мейсън. Характеризирайки се с геномните си свойства, MRI-H186 съдържа приблизително 26 интегрирани копия както на пълнодълго, така и на съкратени форми на генома на HPV16, които значително влияят на транскриптомния му профил.

Клетките MRI-H186 се отличават със силна експресия на ранни транскрипти на HPV16 с пълна дължина и на съкратени транскрипти, като по-специално показват високи нива на РНК E5 с пълна дължина (fl). Този транскрипционен подпис се различава значително от този, наблюдаван при други клетъчни линии на цервикален карцином, като CaSki и MRI-H196. Освен това транскрипционната активност на MRI-H186 по отношение на експресията на различни други транскрипти показва близко съответствие с моделите, наблюдавани при клетъчните линии НПК-1А и С3, което показва сходно транскрипционно поведение при тези модели. Наличието както на геномни интеграции с пълна дължина, така и на съкратени HPV16 в клетките MRI-H186 е ключов фактор за тяхната енергична експресия на ранни вирусни транскрипти, особено подчертана от значителната експресия на E5 fl РНК. Тази интензивна транскрипционна активност завършва при сигнала за ранно полиаденилиране, което подчертава уникалната транскрипционна динамика в рамките на клетъчната линия MRI-H186.

Organism

Човек

Tissue

Цервикс

Disease

Плоскоклетъчен карцином

Synonyms

Cerv-186, MRI-H-186, MRI-H186

Характеристики

Age

42 години

Gender

Жена

Ethnicity

Африкански

Morphology

Подобни на епител

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Клетки CERV-186 | 300290

Citation CERV-186 (каталожен номер 300290 на Cytion)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5720

Биомолекулярни данни

Tumorigenic Да, при голи мишки

Viruses HPV-16 положителен

Products Цитокератин 8, 18, виментин, десмоплакин

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 NaHCO₃ (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 2×10^4 клетки/cm² ще доведат до конфлуентен монослой в рамките на 7 дни

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Клетки CERV-186 | 300290

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-186 | 300290

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 микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

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

HLA алели

A*: '30:01:01
B*: '13:02:01
C*: '06:02:01
DRB1*: '07:01:01
DQA1*: '02:01:01
DQB1*: '02:02:01
DPB1*: '03:01:01
E: '01:01:01