

## 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

Придържащи се

## Регулаторни данни

## Клетки CERV-186 | 300290

<b>Citation</b>	CERV-186 (каталожен номер 300290 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5720

## Биомолекулярни данни

<b>Tumorigenic</b>	Да, при голи мишки
<b>Viruses</b>	HPV-16 положителен
<b>Products</b>	Цитокератин 8, 18, виментин, десмоплакин

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	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 <sub>3</sub> (номер на изделието на Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	2 x 10 <sup>4</sup> клетки/cm <sup>2</sup> ще доведат до конфлуентен монослой в рамките на 7 дни
<b>Fluid renewal</b>	2 до 3 пъти седмично
<b>Post-Thaw Recovery</b>	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10 <sup>4</sup> клетки/cm <sup>2</sup> 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 антимикуробен 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%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**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 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\*:** '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