

Buňky CERV-196 | 300291

Obecné informace

Description

Buněčná linie MRI-H196, odvozená z HPV16 pozitivního karcinomu děložního hrdla, vykazuje jedinečný profil exprese HPV16 transkriptu charakterizovaný přítomností transkriptu L1 v plné délce a výraznou absencí RNA E5 v plné délce. Tento vzorec naznačuje integraci genomu HPV16 v rámci buněčné linie, která postihuje zejména oblast E2 a způsobuje přestavbu sekvence DNA L1. Absence exprese RNA plné délky E5 naznačuje narušení transkripce časných RNA plné délky, která obvykle končí u polyadenylačního signálu umístěného za otevřeným čtecím rámcem (ORF) E5. Takové narušení svědčí o integrovaném stavu genomů HPV16, kdy je klíčová oblast E2 - klíčová pro virovou replikaci a regulaci transkripce - často narušena během integrace do hostitelského genomu. Toto narušení má potenciální dopad na expresi následných genů, včetně genu E5.

Tento fenomén integrace v buňkách MRI-H196 poukazuje na složitost chování genomu HPV16 po integraci a zdůrazňuje užitečnost buněčné linie při studiu genomických a transkripčních složitostí spojených s integrací HPV v karcinomech děložního hrdla. Pochopení této dynamiky má zásadní význam pro poznání mechanismů onkogeneze a progresu karcinomů spojených s HPV, což z buněčné linie MRI-H196 činí cenný zdroj pro lékařský a biologický výzkum.

Organism

Člověk

Tissue

Cervix

Disease

Dlaždicobuněčný karcinom

Synonyms

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

Charakteristika

Age

49 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Africké

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

CERV-196 (katalogové číslo Cytion 300291)

Buňky CERV-196 | 300291

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5721

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Viruses	HPV-16 pozitivní
Products	Cytokeratin 8, 18, Vimentin

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:6
Seeding density	Doporučuje se 1×10^4 buněk/cm ² .
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm ² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Buňky CERV-196 | 300291**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky CERV-196 | 300291**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12,13
D13S317: 8,11
D16S539: 12
D5S818: 11
D7S820: 11,12
TH01: 6
TPOX: 8
vWA: 14
D3S1358: 17
D21S11: 30
D18S51: 14
Penta E: 12,16
Penta D: 12
D8S1179: 13
FGA: 20

Alely HLA

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