

Buňky CERV-186 | 300290

Obecné informace

Description

Buněčná linie CERV-186, odvozená in vitro z xenotransplantátu karcinomu děložního hrdla MRI-H-186, slouží jako biologický model invazivního velkobuněčného nekeratinizujícího dlaždicobuněčného karcinomu. Tato buněčná linie byla vytvořena a upravena pro transplantaci in vivo pod vedením Dr. Bodgena v Masonově výzkumném ústavu. MRI-H186, charakterizovaná svými genomickými vlastnostmi, obsahuje přibližně 26 integrovaných kopií jak plných, tak zkrácených forem genomu HPV16, které významně ovlivňují její transkriptomický profil.

Buňky MRI-H186 se vyznačují silnou expresí časných transkriptů HPV16 plné i zkrácené délky, zejména vykazují vysoké hladiny RNA plné délky E5 (fl). Tento transkripční znak se výrazně liší od znaků pozorovaných u jiných buněčných linií karcinomu děložního hrdla, jako jsou CaSki a MRI-H196. Kromě toho transkripční aktivita MRI-H186, pokud jde o expresi různých dalších transkriptů, vykazuje blízkou shodu se vzorci pozorovanými u buněčných linií HPK-1A a C3, což naznačuje podobné transkripční chování u těchto modelů. Přítomnost genomických integrací HPV16 v plné délce i zkrácených genomů v buňkách MRI-H186 je klíčovým faktorem jejich intenzivní exprese časných virových transkriptů, což podtrhuje zejména významná exprese fl RNA E5. Tato intenzivní transkripční aktivita kulminuje u časného polyadenylačního signálu, což zdůrazňuje jedinečnou transkripční dynamiku v buněčné linii MRI-H186.

Organism

Člověk

Tissue

Cervix

Disease

Dlaždicobuněčný karcinom

Synonyms

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

Charakteristika

Age

42 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Africké

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Buňky CERV-186 | 300290

Citation CERV-186 (katalogové číslo Cytion 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720

Biomolekulární data

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

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 NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte 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 vyhodte, 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** 2×10^4 buněk/cm² vytvoří konfluentní monovrstvu do 7 dnů.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Buňky CERV-186 | 300290

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-186 | 300290**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: 9,11
D13S317: 12
D16S539: 13
D5S818: 11,12
D7S820: 8,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 14,17
D3S1358: 15,18
D21S11: 29,30
D18S51: 16
Penta E: 5,7
Penta D: 10,12
D8S1179: 14
FGA: 19,20

Alely HLA

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