

CERV-186-celler | 300290

Generel information

Description

CERV-186-cellelinjen, der stammer in vitro fra xenotransplantation af livmoderhalskræft MRI-H-186, fungerer som en biologisk model for invasiv, storcellet, ikke-keratiniserende pladecellekarcinom. Denne cellelinje blev etableret og tilpasset til in vivo-transplantation under ledelse af Dr. Bodgen på Mason Research Institute. MRI-H186 er karakteriseret ved sine genomiske egenskaber og indeholder ca. 26 integrerede kopier af både fuldlængde- og trunkeerede former af HPV16-genomet, hvilket har stor indflydelse på dens transkriptomiske profil.

MRI-H186-celler er kendetegnet ved deres robuste udtryk for både fuldlængde og trunkeerede tidlige HPV16-transkripter, der især viser høje niveauer af E5 fuldlængde (fl) RNA. Denne transkriptionelle signatur adskiller sig markant fra den, der er observeret i andre cellelinjer fra livmoderhalskræft, såsom CaSki og MRI-H196. Derudover viser den transkriptionelle aktivitet af MRI-H186, hvad angår udtrykket af forskellige andre transkripter, en tæt overensstemmelse med de mønstre, der er observeret i HPK-IA- og C3-cellelinjerne, hvilket indikerer en lignende transkriptionel adfærd på tværs af disse modeller. Tilstedeværelsen af både fuldlængde og trunkeerede HPV16 genomiske integrationer i MRI-H186-celler er en nøgelfaktor i deres kraftige udtryk af tidlige virale transkripter, hvilket især understreges af det betydelige udtryk af E5 fl RNA. Denne intense transkriptionsaktivitet kulminerer ved det tidlige polyadenyleringssignal, hvilket fremhæver den unikke transkriptionsdynamik inden for MRI-H186-cellelinjen.

Organism

Menneske

Tissue

Livmoderhalsen

Disease

Pladecellekarcinom

Synonyms

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

Karakteristika

Age

42 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Afrikansk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

CERV-186-celler | 300290**Citation** CERV-186 (Cytion katalognummer 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Biomolekylære data****Tumorigenic** Yees, i nøgne mus**Viruses** HPV-16 positiv**Products** Cytokeratin 8, 18, Vimentin, Desmoplakin**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 2×10^4 celler/cm² vil resultere i et sammenhængende monolag inden for 7 dage.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

CERV-186-celler | 300290

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

CERV-186-celler | 300290

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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