

CERV-186-Zellen | 300290

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie CERV-186, die in vitro aus dem Xenotransplantat des Gebärmutterhalskrebses MRI-H-186 gewonnen wurde, dient als biologisches Modell für invasive, großzellige, nicht-verhornende Plattenepithelkarzinome. Diese Zelllinie wurde unter der Leitung von Dr. Bodgen am Mason Research Institute etabliert und für die In-vivo-Transplantation angepasst. MRI-H186 zeichnet sich durch seine genomischen Eigenschaften aus und enthält etwa 26 integrierte Kopien des HPV16-Genoms in voller Länge und in verkürzter Form, die das transkriptomische Profil erheblich beeinflussen.

MRI-H186-Zellen zeichnen sich durch eine robuste Expression sowohl von Vollängen- als auch von verkürzten frühen HPV16-Transkripten aus und weisen vor allem hohe Konzentrationen von E5-RNA in voller Länge (fl) auf. Diese Transkriptionssignatur unterscheidet sich deutlich von derjenigen, die in anderen Gebärmutterhalskrebs-Zelllinien wie CaSki und MRI-H196 beobachtet wird. Darüber hinaus zeigt die Transkriptionsaktivität von MRI-H186 in Bezug auf die Expression verschiedener anderer Transkripte eine enge Übereinstimmung mit den Mustern, die in den HPK-IA- und C3-Zelllinien beobachtet wurden, was auf ein ähnliches Transkriptionsverhalten in diesen Modellen hindeutet. Das Vorhandensein von genomischen Integrationen von HPV16 in voller Länge und in verkürzter Form in MRI-H186-Zellen ist ein Schlüsselfaktor für die starke Expression früher viraler Transkripte, was insbesondere durch die signifikante Expression der E5 fl RNA unterstrichen wird. Diese intensive Transkriptionsaktivität kulminiert am frühen Polyadenylierungssignal und unterstreicht die einzigartige Transkriptionsdynamik innerhalb der MRI-H186-Zelllinie.

Organism

Menschen

Tissue

Gebärmutterhals

Disease

Plattenepithelkarzinom

Synonyms

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

Merkmale

Age

42 Jahre

Gender

Weiblich

Ethnicity

Afrika

Morphology

Epithelähnlich

Growth properties

Adhärent

Regulatorische Daten

CERV-186-Zellen | 300290**Citation** CERV-186 (Cytion Katalognummer 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Biomolekulare Daten****Tumorigenic** Ja, in Nacktmäusen**Viruses** HPV-16 positiv**Products** Cytokeratin 8, 18, Vimentin, Desmoplakin**Handhabung****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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:6**Seeding density** 2×10^4 Zellen/cm² führen innerhalb von 7 Tagen zu einer konfluenten Monoschicht.**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche

CERV-186-Zellen | 300290

Post-Thaw Recovery

Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

CERV-186-Zellen | 300290

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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

CERV-186-Zellen | 300290

HLA-Allele

- 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