

Κύτταρα CERV-196 | 300291

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά MRI-H196, προερχόμενη από HPV16-θετικό καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας, εμφανίζει ένα μοναδικό προφίλ έκφρασης των μεταγράφων του HPV16 που χαρακτηρίζεται από την παρουσία του μεταγράφου L1 πλήρους μήκους και τη σημαντική απουσία του RNA πλήρους μήκους E5. Το πρότυπο αυτό υποδηλώνει την ενσωμάτωση του γονιδιώματος του HPV16 εντός της κυτταρικής σειράς, επηρεάζοντας ιδιαίτερα την περιοχή E2 και προκαλώντας αναδιάταξη της αλληλουχίας L1 DNA. Η απουσία έκφρασης του RNA πλήρους μήκους E5 υποδηλώνει διαταραχή στη μεταγραφή των πρώιμων RNA πλήρους μήκους, τα οποία συνήθως καταλήγουν στο σήμα πολυαδενυλίωσης που βρίσκεται κατάντη του ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης (ORF) του E5. Μια τέτοια διαταραχή είναι ενδεικτική της ολοκληρωμένης κατάστασης των γονιδιωμάτων του HPV16, όπου η κρίσιμη περιοχή E2 -κλειδί για την αντιγραφή του ιού και τη ρύθμιση της μεταγραφής- συχνά διακυβεύεται κατά την ενσωμάτωση στο γονιδίωμα του ξενιστή. Η διαταραχή αυτή επηρεάζει ενδεχομένως την έκφραση των γονιδίων που ακολουθούν, συμπεριλαμβανομένου του E5.

Αυτό το φαινόμενο ενσωμάτωσης εντός των κυττάρων MRI-H196 αναδεικνύει την πολυπλοκότητα της συμπεριφοράς του γονιδιώματος του HPV16 μετά την ενσωμάτωση, τονίζοντας τη χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς στη μελέτη των γονιδιωματικών και μεταγραφικών περιπλοκών που σχετίζονται με την ενσωμάτωση του HPV στα καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας. Η κατανόηση αυτών των δυναμικών είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση των μηχανισμών ογκογένεσης και της εξέλιξης των καρκίνων που σχετίζονται με τον HPV, καθιστώντας την κυτταρική σειρά MRI-H196 πολύτιμη πηγή για την ιατρική και βιολογική έρευνα.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Τράχηλος μήτρας

Disease

Καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

49 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Αφρικανική

Morphology

Επιθηλιοειδής

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα CERV-196 | 300291

Citation CERV-196 (αριθμός καταλόγου Cytion 300291)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια**Viruses** HPV-16 θετικό**Products** Κυτταροκερατίνη 8, 18, βιμεντίνη

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Seeding density** Συνιστάται 1×10^4 κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Post-Thaw Recovery** Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

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

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα CERV-196 | 300291**Freezing Procedure**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

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