

Κύτταρα CERV-186 | 300290

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά CERV-186, που προέρχεται in vitro από την ξενομεταμόσχευση του καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας MRI-H-186, χρησιμεύει ως βιολογικό μοντέλο για το διηθητικό, μεγαλόκυτταρο, μη κερατινοποιητικό πλακώδες καρκίνωμα. Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε και προσαρμόστηκε για μεταμόσχευση in vivo υπό τη διεύθυνση του Δρ Bodgen στο ερευνητικό ινστιτούτο Mason. Χαρακτηρίζεται από τις γονιδιωματικές ιδιότητές της, η MRI-H186 περιέχει περίπου 26 ενσωματωμένα αντίγραφα τόσο της πλήρους μήκους όσο και της κουτσουρεμένης μορφής του γονιδιώματος του HPV16, τα οποία επηρεάζουν σημαντικά το μεταγραφικό της προφίλ.

Τα κύτταρα MRI-H186 διακρίνονται από την ισχυρή έκφραση τόσο των πλήρους μήκους όσο και των περικομμένων πρώιμων μεταγράφων του HPV16, εμφανίζοντας κυρίως υψηλά επίπεδα RNA πλήρους μήκους (fl) E5. Αυτή η μεταγραφική υπογραφή διαφέρει σημαντικά από εκείνη που παρατηρείται σε άλλες κυτταρικές σειρές καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας, όπως οι CaSki και MRI-H196. Επιπλέον, η μεταγραφική δραστηριότητα της MRI-H186, όσον αφορά την έκφραση διαφόρων άλλων μεταγράφων, παρουσιάζει στενή ευθυγράμμιση με τα πρότυπα που παρατηρήθηκαν στις κυτταρικές σειρές HPK-1A και C3, υποδεικνύοντας παρόμοια μεταγραφική συμπεριφορά σε αυτά τα μοντέλα. Η παρουσία τόσο πλήρους μήκους όσο και κουτσουρεμένων γονιδιωματικών ενσωματώσεων του HPV16 στα κύτταρα MRI-H186 αποτελεί βασικό παράγοντα για την έντονη έκφραση των πρώιμων ιικών μεταγράφων τους, γεγονός που υπογραμμίζεται ιδιαίτερα από τη σημαντική έκφραση του E5 fl RNA. Αυτή η έντονη μεταγραφική δραστηριότητα κορυφώνεται στο πρώιμο σήμα πολυαδενυλίωσης, αναδεικνύοντας τη μοναδική μεταγραφική δυναμική εντός της κυτταρικής σειράς MRI-H186.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Τράχηλος μήτρας

Disease

Καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

42 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Αφρικανική

Morphology

Επιθηλιοειδής

Growth properties

Προσκολλημένο

Κύτταρα CERV-186 | 300290

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	CERV-186 (αριθμός καταλόγου Cytion 300290)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5720

Βιομοριακά δεδομένα

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

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 NaHCO ₃ (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	2 x 10 ⁴ κύτταρα/cm ² θα οδηγήσουν σε συγχωνευμένη μονοστρωματική κυτταρική καλλιέργεια εντός 7 ημερών.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα CERV-186 | 300290**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.

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 x 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% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα CERV-186 | 300290**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*: '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