

CERV-196 rakud | 300291**Üldine teave****Description**

MRI-H196 rakuliinil, mis on saadud HPV16-positiivsest emakakaela kartsinoomist, on ainulaadne HPV16 transkripti ekspresiooniprofiil, mida iseloomustab täispika L1 transkripti olemasolu ja E5 täispika RNA märgatav puudumine. See muster viitab HPV16 genoomi integratsioonile rakuliinis, mis mõjutab eelkõige E2 piirkonda ja põhjustab L1 DNA järjestuse ümberpaigutamist. E5 täispika RNA ekspresiooni puudumine viitab täispika varase RNA transkriptsiooni häirele, mis tavaliselt lõpeb E5 avatud lugemisraamistiku (ORF) allavoolu asuva poliadenüülimissignaali juures. Selline katkestus viitab HPV16 genoomide integreeritud olekusse, kus oluline E2 piirkond - mis on viiruse replikatsiooni ja transkriptsiooni reguleerimise võtmeks - on sageli kahjustatud peremeesgenoomi integreerumise ajal. See häire võib mõjutada järgnevate geenide, sealhulgas E5 ekspresiooni.

See integratsiooninähtus MRI-H196 rakkudes rõhutab HPV16 genoomi käitumise keerukust pärast integratsiooni, rõhutades rakuliini kasulikkust HPV integratsiooniga seotud genoomiliste ja transkriptsiooniliste keerukuste uurimisel emakakaela kartsinoomides. Selle dünaamika mõistmine on oluline, et mõista onkogeneesi mehhanisme ja HPV-ga seotud vähkkasvajate progresseerumist, mistõttu on MRI-H196 rakuliin väärtuslik ressurss meditsiinilisteks ja bioloogilisteks uuringuteks.

Organism Inimene**Tissue** Emakakael**Disease** Rakk-kartsinoom**Synonyms** Cerv-196, MRI-H-196, MRI-H196**Omadused****Age** 49 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Aafrika**Morphology** Epiteelilaadsed**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** CERV-196 (Cytioni katalooginumber 300291)

CERV-196 rakud | 300291**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel**Viruses** HPV-16 positiivne**Products** Tsütokeratiin 8, 18, vimentiin**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** Soovitav on 1×10^4 rakku/cm².**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

CERV-196 rakud | 300291**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

CERV-196 rakud | 300291

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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