

## CERV-186 rakud | 300290

## Üldine teave

## Description

CERV-186 rakuliin, mis on saadud in vitro emakakaelavähi ksenotransplantatsioonist MRI-H-186, on invasiivse, suurrakulise, mittekeratiniseeriva plaatinoosse rakukartsinoomi bioloogiline mudel. See rakuliin loodi ja kohandati in vivo siirdamiseks dr Bodgeni juhtimisel Masoni uurimisinstituudis. MRI-H186 sisaldab genoomsete omaduste poolest iseloomulikult ligikaudu 26 integreeritud koopiat nii HPV16 genoomi täispikkusest kui ka kärbitud vormidest, mis mõjutavad oluliselt selle transkriptomilist profiili.

MRI-H186 rakke iseloomustab nii täispikkuses kui ka kärbitud varajase HPV16 transkriptide jõuline ekspressioon, eelkõige E5 täispika (fl) RNA kõrge sisaldus. See transkriptsioonisignatuur erineb märkimisväärselt teistest emakakaela kartsinoomi rakuliinidest, nagu CaSki ja MRI-H196. Lisaks sellele on MRI-H186 transkriptsiooniline aktiivsus erinevate teiste transkriptide ekspressiooni osas tihedalt kooskõlas HPK-IA ja C3 rakuliinides täheldatud mustritega, mis näitab sarnast transkriptsioonilist käitumist nendes mudelites. Nii täispikkuses kui ka kärbitud HPV16 genoomsete integratsioonide olemasolu MRI-H186 rakkudes on võtmeteguriks nende varajaste viiruse transkriptide jõulises ekspressioonis, mida eriti rõhutab E5 fl RNA märkimisväärne ekspressioon. See intensiivne transkriptsiooniline aktiivsus kulmineerub varajase polüadenüülimise signaali juures, mis rõhutab ainulaadset transkriptsioonidünaamikat MRI-H186 rakuliinis.

**Organism** Inimene

**Tissue** Emakakael

**Disease** Rakk-kartsinoom

**Synonyms** Cerv-186, MRI-H-186, MRI-H186

## Omadused

**Age** 42 aastat

**Gender** Naised

**Ethnicity** Aafrika

**Morphology** Epiteelilaadsed

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** CERV-186 (Cytioni katalooginumber 300290)

**CERV-186 rakud | 300290****Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_5720**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel**Viruses** HPV-16 positiivne**Products** Tsütokeratiin 8, 18, vimentiin, desmoplakiin**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 NaHCO<sub>3</sub> (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**  $2 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> annab 7 päeva jooksul tulemuseks konfluentse monokihi.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> 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-186 rakud | 300290****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%  $\text{CO}_2$ , 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-186 rakud | 300290

### 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\***: '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