

CERV-186-solut | 300290

Yleisiä tietoja

Description

CERV-186-solulinja, joka on johdettu in vitro kohdunkaulan karsinooman MRI-H-186 ksenotransplantaatiosta, toimii biologisena mallina invasiiviselle, suurisoluiselle, ei-keratinisoivalle okasolusyövälle. Tämä solulinja perustettiin ja mukautettiin in vivo -siirtoa varten tohtori Bodgenin johdolla Mason Research Institutessa. MRI-H186 sisältää noin 26 integroitunutta kopiota HPV16-genomin täyspitkää ja typistettyä muodosta, jotka vaikuttavat merkittävästi sen transkriptomiseen profiiliin.

MRI-H186-solut eroavat toisistaan siten, että ne ilmentävät voimakkaasti sekä täyspitkiä että typistettyjä varhaisia HPV16-transkriptejä, ja niissä on erityisesti runsaasti E5:n täyspitkää (fl) RNA:ta. Tämä transkriptionaalinen piirre eroaa huomattavasti muista kohdunkaulan karsinooman solulinjoista, kuten CaSki- ja MRI-H196-solulinjoista. Lisäksi MRI-H186:n transkriptionaalinen aktiivisuus useiden muiden transkriptien ilmentymisen osalta on hyvin samansuuntainen HPK-IA- ja C3-solulinjoissa havaittujen mallien kanssa, mikä viittaa samanlaiseen transkriptionaaliseen käyttäytymiseen näissä malleissa. Sekä täyspitkien että typistettyjen HPV16-genomi-integraatioiden esiintyminen MRI-H186-soluissa on keskeinen tekijä niiden varhaisen viruksen transkriptien voimakkaassa ilmentymisessä, mitä korostaa erityisesti E5 fl RNA:n merkittävä ilmentyminen. Tämä voimakas transkriptioaktiivisuus huipentuu varhaiseen polyadenylaatio-signaaliin, mikä korostaa ainutlaatuisia transkriptiodynamiikkaa MRI-H186-solulinjassa.

Organism

Ihminen

Tissue

Kohdunkaula

Disease

Okasolusyöpä

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

42 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Afrikkalainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

CERV-186-solut | 300290

Citation	CERV-186 (Cytionin luettelonumero 300290)
----------	---

Biosafety level	2
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_5720
----------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä
-------------	-----------------------------

Viruses	HPV-16 positiivinen
---------	---------------------

Products	Sytokeratiini 8, 18, Vimentiini, Desmoplakiini
----------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)
----------------	---

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
-------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
--------------	---

Seeding density	2×10^4 solua/cm ² tuottaa yhtenäisen monokerroksen 7 päivän kuluessa.
-----------------	---

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
---------------	---------------------

Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm ² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
--------------------	--

CERV-186-solut | 300290**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

CERV-186-solut | 300290**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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