

CERV-215 Solut | 300292

Yleisiä tietoja

Description

CERV-215-solulinja, jonka tohtori Bodgen on perustanut Masonin tutkimuslaitoksessa, on peräisin primaarisesta ksenotransplantaatiosta nimeltä MRI-H215, joka on mukautettu in vivo -siirtoa varten.

Tämä solulinja edustaa aggressiivista epidermoidikarsinooman muotoa, joka luokitellaan invasiiviseksi, suurisoluiseksi, ei-keratinisoivaksi ja huonosti erilaistuneeksi.

Cerv-215-solulinja on keskeinen resurssi syöpätutkimuksessa, erityisesti geneettisten muutosten ja niiden roolin tutkimisessa kohdunkaulan karsinogeneesissä. Tälle solulinjalle on ominaista ainutlaatuiset geneettiset muutokset Smad4-geenissä, jossa tietyt eksonit on korvattu muilla genomialueilla olevilla sekvensseillä, mikä johtaa typistettyjen ja todennäköisesti toimimattomien Smad4-proteiinien ilmentymiseen. Nämä muutokset antavat tietoa solulinjan onkogeenisistä ominaisuuksista ja kohdunkaulan syövän taustalla olevista molekyylimekanismeista.

Huomionarvoista on, että MRI-215 on HPV45-positiivinen, mutta sen Smad4-geenin muutokset ovat riippumattomia HPV-integraatiosta, mikä viittaa siihen, että syövän kehittymiseen vaikuttavat monimutkaiset geneettiset tekijät vaikuttavat virusten vaikutusten lisäksi myös muuhun monimutkaiseen vuorovaikutukseen. Tämä solulinja on korvaamaton väline tutkijoille, jotka keskittyvät syövän geneettisiin näkökohtiin, Smad4:n rooliin kasvaimen etenemisessä sekä ihmisen papilloomaviruksen ja isännän solumekanismien väliseen vuorovaikutukseen.

MRI-H215 tarjoaa ainutlaatuisen alustan kohdunkaulan syövän monimutkaisuuden tutkimiseen molekyyllitasolla, mikä tekee siitä olennaisen osan syöpätutkimuslaboratorioita, jotka pyrkivät löytämään uusia terapeuttisia kohteita ja ymmärtämään kasvainten synnyn geneettistä perustaa.

Organism

Ihminen

Tissue

Kohdunkaula

Disease

Syöpä

Synonyms

Cerv-215, MRI-H-215, MRI-H-215, MRI-H215

Ominaisuudet

Age

39 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Afrikkalainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

CERV-215 Solut | 300292

Cell type	Epidermoidi
-----------	-------------

Growth properties	Tarttuva
-------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	CERV-215 (Cytionin luettelonumero 300292)
----------	---

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_5722
----------------------	-----------

Biomolekyyli tiedot

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

Viruses	HPV-16 negatiivinen
---------	---------------------

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

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
----------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
-------------	---

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.
--------------	---

CERV-215 Solut | 300292

Seeding density Suositellaan 1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediaa 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 kuivajäällä, 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 jäät 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 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

CERV-215 Solut | 300292**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.

Shipping Conditions

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.

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*: '02:01, '03:01

B*: '35:08:00, '40:01:00

C*: '03:04, '04:01