

Cellules CERV-196 | 300291**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire MRI-H196, dérivée d'un carcinome cervical HPV16 positif, présente un profil d'expression unique des transcrits HPV16, caractérisé par la présence du transcrit L1 complet et une absence marquée de l'ARN E5 complet. Ce profil suggère une intégration du génome HPV16 dans la lignée cellulaire, affectant particulièrement la région E2 et provoquant un réarrangement de la séquence d'ADN L1. L'absence d'expression de l'ARN de pleine longueur E5 indique une perturbation de la transcription des ARN précoces de pleine longueur, qui se termine généralement au niveau du signal de polyadénylation situé en aval du cadre de lecture ouvert (ORF) de l'E5. Cette perturbation est révélatrice de l'état d'intégration des génomes HPV16, où la région cruciale E2 - clé de la réplication virale et de la régulation de la transcription - est souvent compromise au cours de l'intégration dans le génome de l'hôte. Cette perturbation peut avoir un impact sur l'expression des gènes en aval, y compris le gène E5.

Ce phénomène d'intégration dans les cellules MRI-H196 met en évidence la complexité du comportement du génome du HPV16 après l'intégration, soulignant l'utilité de la lignée cellulaire pour l'étude des subtilités génomiques et transcriptionnelles associées à l'intégration du HPV dans les carcinomes du col de l'utérus. La compréhension de cette dynamique est essentielle pour comprendre les mécanismes de l'oncogenèse et la progression des cancers associés au HPV, ce qui fait de la lignée cellulaire MRI-H196 une ressource précieuse pour la recherche médicale et biologique.

Organism

Humain

Tissue

Col de l'utérus

Disease

Carcinome épidermoïde

Synonyms

Cerv-196, MRI-H-196, MRI-H196

Caractéristiques**Age**

49 ans

Gender

Femme

Ethnicity

Africains

Morphology

De type épithélial

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Cellules CERV-196 | 300291**Citation** CERV-196 (numéro de catalogue Cytion 300291)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Données biomoléculaires****Tumorigenic** Oui, sur des souris nues**Viruses** HPV-16 positif**Products** Cytokératine 8, 18, Vimentine**Manipulation****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820400a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:2 à 1:6 est recommandé**Seeding density** 1×10^4 cellules/cm² est recommandé**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

Cellules CERV-196 | 300291

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules CERV-196 | 300291

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12,13
D13S317: 8,11
D16S539: 12
D5S818: 11
D7S820: 11,12
TH01: 6
TPOX: 8
vWA: 14
D3S1358: 17
D21S11: 30
D18S51: 14
Penta E: 12,16
Penta D: 12
D8S1179: 13
FGA: 20

Cellules CERV-196 | 300291

Allèles HLA

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