

Cellules CERV-186 | 300290

Informations générales

Description

La lignée cellulaire CERV-186, dérivée in vitro de la xénogreffe du carcinome cervical MRI-H-186, sert de modèle biologique pour le carcinome épidermoïde invasif à grandes cellules non kératinisantes. Cette lignée cellulaire a été établie et adaptée à la transplantation in vivo sous la direction du Dr Bodgen au Mason Research Institute. Caractérisée par ses propriétés génomiques, MRI-H186 contient environ 26 copies intégrées des formes pleine longueur et tronquée du génome HPV16, qui influencent de manière significative son profil transcriptomique.

Les cellules MRI-H186 se distinguent par leur forte expression de transcrits précoces du HPV16, qu'ils soient de pleine longueur ou tronqués, et présentent notamment des niveaux élevés d'ARN de pleine longueur (fl) E5. Cette signature transcriptionnelle se distingue nettement de celle observée dans d'autres lignées cellulaires de carcinome cervical telles que CaSki et MRI-H196. En outre, l'activité transcriptionnelle de MRI-H186, en termes d'expression de divers autres transcrits, s'aligne étroitement sur les modèles observés dans les lignées cellulaires HPK-1A et C3, ce qui indique un comportement transcriptionnel similaire dans l'ensemble de ces modèles. La présence d'intégrations génomiques du HPV16, qu'elles soient complètes ou tronquées, dans les cellules MRI-H186 est un facteur clé de l'expression vigoureuse des premiers transcrits viraux, particulièrement soulignée par l'expression significative de l'ARN fl E5. Cette activité transcriptionnelle intense culmine au niveau du signal de polyadénylation précoce, soulignant la dynamique transcriptionnelle unique au sein de la lignée cellulaire MRI-H186.

Organism

Humain

Tissue

Col de l'utérus

Disease

Carcinome épidermoïde

Synonyms

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

Caractéristiques

Age

42 ans

Gender

Femme

Ethnicity

Africains

Morphology

De type épithélial

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Cellules CERV-186 | 300290**Citation** CERV-186 (numéro de catalogue Cytion 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Données biomoléculaires****Tumorigenic** Oui, sur des souris nues**Viruses** HPV-16 positif**Products** Cytokératine 8, 18, Vimentine, Desmoplakine**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** 2×10^4 cellules/cm² donneront lieu à une monocouche confluente dans les 7 jours.**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

Cellules CERV-186 | 300290

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemer 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-186 | 300290

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: 9,11
D13S317: 12
D16S539: 13
D5S818: 11,12
D7S820: 8,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 14,17
D3S1358: 15,18
D21S11: 29,30
D18S51: 16
Penta E: 5,7
Penta D: 10,12
D8S1179: 14
FGA: 19,20

Cellules CERV-186 | 300290

Allèles HLA

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