

CERV-186 sejtek | 300290

Általános információk

Description

A CERV-186 sejtvonal, amely in vitro az MRI-H-186 méhnyakrák xenotranszplantációjából származik, az invazív, nagysejtű, nem keratinizáló laphámsejtes karcinóma biológiai modelljeként szolgál. Ezt a sejtvonalat a Mason Kutatóintézetben Dr. Bodgen vezetésével hozták létre és adaptálták in vivo transzplantációra. A genomikai tulajdonságai alapján jellemezhető MRI-H186 a HPV16 genom teljes hosszúságú és csonka formáinak mintegy 26 integrált példányát tartalmazza, amelyek jelentősen befolyásolják a transzkriptomikai profilját.

Az MRI-H186 sejteket megkülönbözteti a teljes hosszúságú és a csonka korai HPV16 transzkriptumok erőteljes expressziója, különösen az E5 teljes hosszúságú (fl) RNS magas szintje. Ez a transzkripció szignatúra jelentősen különbözik más méhnyakrákos sejtvonalakban, például a CaSki és az MRI-H196 esetében megfigyeltektől. Ezenkívül az MRI-H186 transzkripció aktivitása a különböző egyéb transzkriptumok expressziója tekintetében szoros egyezést mutat a HPK-IA és C3 sejtvonalakban megfigyelt mintázatokkal, ami hasonló transzkripció viselkedést jelez ezekben a modellekben. A teljes hosszúságú és csonka HPV16 genomiális integrációk jelenléte az MRI-H186 sejtekben kulcsfontosságú tényező a korai vírusátírások erőteljes expressziójában, amit különösen az E5 fl RNS jelentős expressziója támaszt alá. Ez az intenzív transzkripció aktivitás a korai poliadenilációs jelenlétet okozza, kiemelve az MRI-H186 sejtvonalon belüli egyedi transzkripció dinamikát.

Organism Emberi

Tissue Cervix

Disease Laphámsejtes karcinóma

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

Jellemzők

Age 42 év

Gender Női

Ethnicity Afrikai

Morphology Epithelszerű

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation CERV-186 (Cytion katalógusszám: 300290)

CERV-186 sejtek | 300290

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Biomolekuláris adatok****Tumorigenic** Igen, meztelen egerekben**Viruses** HPV-16 pozitív**Products** Cytokeratin 8, 18, Vimentin, Desmoplakin**A kezelése****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 2×10^4 sejt/cm² 7 napon belül konfluens monoréteget eredményez.**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

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

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt-kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

CERV-186 sejtek | 300290

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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