

Cellule CERV-196 | 300291**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare MRI-H196, derivata da un carcinoma cervicale HPV16-positivo, mostra un profilo di espressione del trascritto HPV16 unico, caratterizzato dalla presenza del trascritto L1 a lunghezza completa e da una marcata assenza dell'RNA E5 a lunghezza completa. Questo schema suggerisce un'integrazione del genoma di HPV16 all'interno della linea cellulare, che interessa in particolare la regione E2 e causa un riarrangiamento della sequenza di DNA L1. L'assenza di espressione dell'RNA completo E5 indica un'interruzione della trascrizione degli RNA precoci completi, che in genere si concludono in corrispondenza del segnale di poliadenilazione situato a valle dell'open reading frame (ORF) dell'E5. Questa interruzione è indicativa dello stato di integrazione dei genomi di HPV16, in cui la regione E2, fondamentale per la replicazione virale e la regolazione della trascrizione, è spesso compromessa durante l'integrazione nel genoma dell'ospite. Questa interruzione ha potenzialmente un impatto sull'espressione dei geni a valle, compreso l'E5.

Questo fenomeno di integrazione nelle cellule MRI-H196 evidenzia la complessità del comportamento del genoma di HPV16 dopo l'integrazione, sottolineando l'utilità della linea cellulare nello studio delle complessità genomiche e trascrizionali associate all'integrazione di HPV nei carcinomi cervicali. La comprensione di queste dinamiche è fondamentale per comprendere i meccanismi dell'oncogenesi e la progressione dei tumori associati all'HPV, rendendo la linea cellulare MRI-H196 una risorsa preziosa per la ricerca medica e biologica.

Organism

Umano

Tissue

Cervice

Disease

Carcinoma a cellule squamose

Synonyms

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

Caratteristiche**Age**

49 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Africano

Morphology

Simile all'epitelio

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule CERV-196 | 300291**Citation** CERV-196 (numero di catalogo Cytion 300291)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Dati biomolecolari****Tumorigenic** Sì, in topi nudi**Viruses** HPV-16 positivo**Products** Citocheratina 8, 18, vimentina**Manipolazione****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820400a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:6**Seeding density** Si consiglia 1×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Post-Thaw Recovery** Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Cellule CERV-196 | 300291

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule CERV-196 | 300291**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Storage
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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