

Cellule CERV-186 | 300290

Informazioni generali

Description

La linea cellulare CERV-186, derivata in vitro dallo xenotrapianto del carcinoma cervicale MRI-H-186, serve come modello biologico per il carcinoma squamoso invasivo a grandi cellule non cheratinizzante. Questa linea cellulare è stata creata e adattata per il trapianto in vivo sotto la direzione del Dr. Bodgen presso il Mason Research Institute. Caratterizzata da proprietà genomiche, la MRI-H186 contiene circa 26 copie integrate di forme complete e tronche del genoma di HPV16, che influenzano significativamente il suo profilo trascrittomico.

Le cellule MRI-H186 si distinguono per la robusta espressione di trascritti precoci di HPV16 sia completi che troncati, in particolare mostrano alti livelli di RNA E5 completo (fl). Questa firma trascrizionale è notevolmente diversa da quella osservata in altre linee cellulari di carcinoma cervicale come CaSki e MRI-H196. Inoltre, l'attività trascrizionale di MRI-H186, in termini di espressione di vari altri trascritti, mostra uno stretto allineamento con i modelli osservati nelle linee cellulari HPK-1A e C3, indicando un comportamento trascrizionale simile in questi modelli. La presenza di integrazioni genomiche di HPV16 sia complete che tronche nelle cellule MRI-H186 è un fattore chiave nella loro vigorosa espressione dei primi trascritti virali, sottolineata in particolare dalla significativa espressione dell'RNA E5 fl. Questa intensa attività trascrizionale culmina in corrispondenza del segnale di poliadenilazione precoce, evidenziando le dinamiche trascrizionali uniche della linea cellulare MRI-H186.

Organism

Umano

Tissue

Cervice

Disease

Carcinoma a cellule squamose

Synonyms

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

Caratteristiche

Age

42 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Africano

Morphology

Simile all'epitelio

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule CERV-186 | 300290

Citation	CERV-186 (numero di catalogo Cytion 300290)
-----------------	---

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_5720
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

Tumorigenic	Sì, in topi nudi
--------------------	------------------

Viruses	HPV-16 positivo
----------------	-----------------

Products	Citocheratina 8, 18, Vimentina, Desmoplakin
-----------------	---

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 NaHCO ₃ (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	2×10^4 cellule/cm ² daranno origine a un monostrato confluento entro 7 giorni
------------------------	---

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm ² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.
---------------------------	--

Cellule CERV-186 | 300290

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-186 | 300290**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: 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

Alleli 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