

CERV-196 ląstelės | 300291

Bendra informacija

Description

MRI-H196 ląstelių linijai, gautai iš ŽPV16 teigiamos gimdos kaklelio karcinomos, būdingas unikalus ŽPV16 transkriptų raiškos profilis, kuriam būdingas pilno ilgio L1 transkriptas ir akivaizdus E5 pilno ilgio RNR nebuvimas. Šis modelis rodo ŽPV16 genomo integraciją ląstelių linijoje, ypač paveikiančią E2 sritį ir sukeliančią L1 DNR sekos pertvarkymą. E5 pilno ilgio RNR raiškos nebuvimas rodo, kad sutriko ankstyvųjų pilno ilgio RNR transkripcija, kuri paprastai baigiasi ties poliadenilimo signalu, esančiu už E5 atvirojo skaitymo rėmelio (ORF). Toks sutrikimas rodo integruotą ŽPV16 genomo būklę, kai integruojantis į šeimininko genomą dažnai pažeidžiama esminė E2 sritis - viruso replikacijos ir transkripcijos reguliavimo raktas. Šis sutrikimas gali turėti įtakos tolesnių genų, įskaitant E5, raiškai.

Šis integracijos reiškinys MRI-H196 ląstelėse išryškina sudėtingą ŽPV16 genomo elgseną po integracijos, pabrėžiant ląstelių linijos naudingumą tiriant genomo ir transkripcijos subtilybes, susijusias su ŽPV integracija gimdos kaklelio karcinomose. Šios dinamikos supratimas yra labai svarbus norint suprasti onkogenės mechanizmus ir su ŽPV susijusių vėžinių susirgimų progresavimą, todėl MRI-H196 ląstelių linija yra vertingas medicinos ir biologijos tyrimų šaltinis.

Organism

Žmogus

Tissue

Gimdos kaklelis

Disease

Plokščialąstelinė karcinoma

Synonyms

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

Charakteristikos

Age

49 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Afrikos

Morphology

| epitelį panašus

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

CERV-196 (Cytion katalogo numeris 300291)

CERV-196 ląstelės | 300291**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Biomolekuliniai duomenys****Tumorigenic** Taip, su nuogomis pelėmis**Viruses** ŽPV-16 teigiamas**Products** Citokeratinas 8, 18, vimentinas**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** Rekomenduojama 1×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

CERV-196 ląstelės | 300291

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

CERV-196 ląstelės | 300291

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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