

CERV-186 šūnas | 300290

Vispārīga informācija

Description

CERV-186 šūnu līnija, kas iegūta in vitro no dzemdes kakla kakla karcinomas MRI-H-186 ksenotransplantāta, kalpo kā invazīvas, lielšūnu, nekeratinizējošas plakanšūnu karcinomas bioloģiskais modelis. Šī šūnu līnija tika izveidota un pielāgota in vivo transplantācijai Dr. Bodgen vadībā Mason Research Institute. MRI-H186 raksturo tās genomiskās īpašības - tā satur aptuveni 26 integrētas gan HPV16 genoma pilna garuma, gan saīsinātu formu kopijas, kas būtiski ietekmē tās transkriptomisko profilu.

MRI-H186 šūnas izceļas ar spēcīgu gan pilna garuma, gan saīsinātu agrīno HPV16 transkriptu ekspresiju, jo īpaši ar augstu E5 pilna garuma (fl) RNS līmeni. Šis transkripcijas raksturojums ievērojami atšķiras no citu dzemdes kakla kakla karcinomas šūnu līniju, piemēram, CaSki un MRI-H196, novērotā. Turklāt MRI-H186 transkripcijas aktivitāte dažādu citu transkriptu ekspresijas ziņā ir tuva modeļiem, kas novēroti HPK-IA un C3 šūnu līnijās, norādot uz līdzīgu transkripcijas uzvedību visos šajos modeļos. Gan pilna garuma, gan saīsinātu HPV16 genoma integrāciju klātbūtne MRI-H186 šūnās ir galvenais faktors, kas nosaka to agrīno vīrusa transkriptu spēcīgo ekspresiju, ko īpaši uzsver ievērojamā E5 fl RNS ekspresija. Šī intensīvā transkripcijas aktivitāte kulminē pie agrīnā poliadenilācijas signāla, uzsverot unikālo transkripcijas dinamiku MRI-H186 šūnu līnijā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Dzemdes kakls

Disease

Plakanšūnu karcinoma

Synonyms

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

Raksturojums

Age

42 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Āfrikas

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

CERV-186 (Cytion kataloga numurs 300290)

CERV-186 šūnas | 300290

Biosafety level 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Biomolekulārie dati****Tumorigenic** Jā, kailām pelēm**Viruses** HPV-16 pozitīvs**Products** Citokeratīns 8, 18, vimentīns, desmoplakīns**Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 2×10^4 šūnas/cm² 7 dienu laikā izveidos konfluentu monoslāni**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

CERV-186 šūnas | 300290

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

CERV-186 šūnas | 300290

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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