

CERV-215 šūnas | 300292

Vispārīga informācija

Description

CERV-215 šūnu līnija, ko izveidoja Dr. Bodgens Mason Research Institute, ir iegūta no primārā ksenotransplantāta MRI-H215, kas ir pielāgots transplantācijai in vivo.

Šī šūnu līnija pārstāv agresīvu epidermoīdās karcinomas formu, kas tiek klasificēta kā invazīva, lielšūnu, nekeratinizējoša un vāji diferencēta.

Cerv-215 šūnu līnija ir galvenais resurss vēža pētniecībā, jo īpaši pētot ģenētiskās izmaiņas un to lomu dzemdes kakla karcinogēnā. Šai šūnu līnijai ir raksturīgas unikālas ģenētiskās modifikācijas Smad4 gēnā, kur konkrēti eksoni ir aizstāti ar sekvencēm no citiem genoma apgabaliem, kā rezultātā tiek ekspresēti saīsināti un, iespējams, nefunkcionējoši Smad4 proteīni. Šīs izmaiņas sniedz ieskatu šūnas līnijas onkogēnajās īpašībās un molekulārajos mehānismos, kas ir dzemdes kakla vēža pamatā.

Zīmīgi, ka MRI-215 ir HPV45 pozitīva, tomēr tās Smad4 gēna izmaiņas nav atkarīgas no HPV integrācijas, kas liecina par sarežģītu ģenētisko faktoru mijiedarbību, kuri veicina vēža attīstību ārpus vīrusu ietekmes. Šī šūnu līnija kalpo kā nenovērtējams rīks pētniekiem, kas pievēršas vēža ģenētiskajiem aspektiem, Smad4 lomai audzēja progresēšanā un mijiedarbībai starp cilvēka papilomas vīrusu un saimnieka šūnas mehānismiem.

MRI-H215 piedāvā unikālu platformu dzemdes kakla vēža sarežģītumu izpētei molekulārā līmenī, padarot to par būtisku sastāvdaļu vēža pētniecības laboratorijās, kuru mērķis ir atklāt jaunus terapeitiskos mērķus un izprast audzēju ģenētisko pamatu.

Organism

Cilvēks

Tissue

Dzemdes kakls

Disease

Karcinoma

Synonyms

Cerv-215, MRI-H-215, MRI-H215

Raksturojums

Age

39 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Āfrikas

Morphology

Epitēlijveidīgs

Cell type

Epidermoīdā

CERV-215 šūnas | 300292

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation CERV-215 (Cytion kataloga numurs 300292)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5722

Biomolekulārie dati

Tumorigenic Jā, kailām pelēm**Viruses** HPV-16 negatīvs**Products** Citokeratīns 8, 18, vimentīns

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**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 Ieteicams 1×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

CERV-215 šūnas | 300292**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.

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% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

CERV-215 šūnas | 300292**Freezing
Procedure**

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

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze**Sterility**

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

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

HLA alēles

A*: '02:01, '03:01

B*: '35:08:00, '40:01:00

C*: '03:04, '04:01