

CERV-196 Cellen | 300291

Algemene informatie

Description

De MRI-H196 cellijn, afgeleid van HPV16-positief cervixcarcinoom, vertoont een uniek HPV16 transcript expressieprofiel dat gekenmerkt wordt door de aanwezigheid van het volledige L1 transcript en een duidelijke afwezigheid van het volledige E5 RNA. Dit patroon suggereert een integratie van het HPV16-genoom in de cellijn, waarbij met name de E2-regio is aangetast en herschikking van de L1 DNA-sequentie is veroorzaakt. De afwezigheid van expressie van E5 volledig RNA duidt op een verstoring in de transcriptie van volledige vroege RNA's, die gewoonlijk eindigen bij het polyadenyleringssignaal stroomafwaarts van het E5 open reading frame (ORF). Een dergelijke verstoring is indicatief voor de geïntegreerde toestand van HPV16-genomen, waarbij de cruciale E2-regio - de sleutel voor virale replicatie en transcriptieregulatie - vaak aangetast wordt tijdens de integratie in het gastheergenoom. Deze verstoring heeft mogelijk invloed op de expressie van downstream genen, waaronder E5.

Dit integratiefenomeen in MRI-H196 cellen benadrukt de complexiteit van het gedrag van het HPV16 genoom na integratie en benadrukt het nut van de cellijn voor het bestuderen van de genomische en transcriptionele fijne kneepjes die geassocieerd worden met HPV integratie in baarmoederhalskanker. Inzicht in deze dynamiek is cruciaal voor inzichten in de mechanismen van oncogenese en de progressie van HPV-geassocieerde kankers, waardoor de MRI-H196 cellijn een waardevolle bron is voor medisch en biologisch onderzoek.

Organism

Mens

Tissue

Baarmoederhals

Disease

Plaveiselcelcarcinoom

Synonyms

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

Kenmerken

Age

49 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Afrikaans

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

CERV-196 Cellen | 300291**Citation** CERV-196 (Cytion catalogusnummer 300291)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Biomoleculaire gegevens****Tumorigenic** Ja, in naakte muizen**Viruses** HPV-16 positief**Products** Cytokeratine 8, 18, Vimentine**Omgaan met****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:2 tot 1:6 wordt aanbevolen**Seeding density** 1×10^4 cellen/cm² wordt aanbevolen**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

CERV-196 Cellen | 300291

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

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

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse**Sterility**

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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

HLA-allelen

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