

CERV-186 Cellen | 300290

Algemene informatie

Description

De CERV-186 cellijn, in vitro afgeleid van de xenotransplantatie van cervixcarcinoom MRI-H-186, dient als biologisch model voor invasief, grootcellig, niet-keratinerend plaveiselcelcarcinoom. Deze cellijn werd opgezet en aangepast voor in vivo transplantatie onder leiding van Dr. Bodgen aan het Mason Research Institute. Gekenmerkt door zijn genomische eigenschappen bevat MRI-H186 ongeveer 26 geïntegreerde kopieën van zowel volledige als afgeknotte vormen van het HPV16-genoom, die het transcriptomische profiel aanzienlijk beïnvloeden.

MRI-H186-cellen onderscheiden zich door hun robuuste expressie van zowel full-length als afgeknotte vroege HPV16-transcripten, met name met hoge niveaus van E5 full-length (fl) RNA. Deze transcriptiesignatuur verschilt duidelijk van die in andere cervixcarcinoomcellijnen zoals CaSki en MRI-H196. Bovendien komt de transcriptionele activiteit van MRI-H186, in termen van expressie van verschillende andere transcripten, sterk overeen met de patronen die zijn waargenomen in de HPK-IA en C3 cellijnen, wat duidt op een vergelijkbaar transcriptioneel gedrag in deze modellen. De aanwezigheid van zowel volledige als afgeknotte HPV16-genomische integraties in MRI-H186-cellen is een belangrijke factor in hun krachtige expressie van vroege virale transcripten, die met name wordt onderstreept door de significante expressie van E5 fl RNA. Deze intense transcriptionele activiteit culmineert bij het vroege polyadenyleringssignaal, wat de unieke transcriptionele dynamiek binnen de MRI-H186 cellijn benadrukt.

Organism

Mens

Tissue

Baarmoederhals

Disease

Plaveiselcelcarcinoom

Synonyms

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

Kenmerken

Age

42 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Afrikaans

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

CERV-186 Cellen | 300290**Citation** CERV-186 (Cytion catalogusnummer 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Biomoleculaire gegevens****Tumorigenic** Ja, in naakte muizen**Viruses** HPV-16 positief**Products** Cytokeratine 8, 18, Vimentine, Desmoplakine**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 resuspenden en vervolgens centrifugeran 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** 2×10^4 cellen/cm² resulteert binnen 7 dagen in een confluent monolaag.**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-186 Cellen | 300290

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

CERV-186 Cellen | 300290**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 / Genetisch profiel / HLA**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: 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

HLA-allelen

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