

## CERV-186-celler | 300290

## Generell informasjon

## Description

CERV-186-cellelinjen, som er avledet in vitro fra xenotransplantasjon av livmorhalskarsinom MRI-H-186, fungerer som en biologisk modell for invasiv, storcellet, ikke-keratiniserende plateepitelkarsinom. Denne cellelinjen ble etablert og tilpasset for in vivo-transplantasjon under ledelse av Dr. Bodgen ved Mason Research Institute. MRI-H186 er karakterisert ved sine genomiske egenskaper, og inneholder ca. 26 integrerte kopier av både full lengde og avkortede former av HPV16-genomet, noe som i betydelig grad påvirker dens transkriptomiske profil.

MRI-H186-celler kjennetegnes av et robust uttrykk av både fullstendige og avkortede tidlige HPV16-transkripter, og viser spesielt høye nivåer av E5 full-lengde (fl) RNA. Denne transkripsjonssignaturen skiller seg markant fra den som er observert i andre cellelinjer for livmorhalskreft, som CaSki og MRI-H196. I tillegg viser transkripsjonsaktiviteten til MRI-H186, når det gjelder uttrykket av ulike andre transkripsjoner, et nært samsvar med mønstrene som er observert i HPK-IA- og C3-cellelinjene, noe som indikerer en lignende transkripsjonsatferd på tvers av disse modellene. Tilstedeværelsen av både fullstendige og avkortede HPV16 genomiske integrasjoner i MRI-H186-celler er en nøkkelfaktor i deres kraftige uttrykk av tidlige virale transkripsjoner, noe som særlig understrekes av det betydelige uttrykket av E5 fl RNA. Denne intense transkripsjonsaktiviteten kulminerer ved det tidlige polyadenyleringssignalet, noe som fremhever den unike transkripsjonsdynamikken i MRI-H186-cellelinjen.

## Organism

Menneskelig

## Tissue

Livmorhalsen

## Disease

Plateepitelkarsinom

## Synonyms

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

## Kjennetegn

## Age

42 år

## Gender

Kvinne

## Ethnicity

Afrikansk

## Morphology

Epitel-lignende

## Growth properties

Vedhengende

## Regulatoriske data

**CERV-186-celler | 300290****Citation** CERV-186 (Cytion katalognummer 300290)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_5720**Biomolekylære data****Tumorigenic** Ja, i nakne mus**Viruses** HPV-16-positiv**Products** Cytokeratin 8, 18, vimentin, desmoplakin**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:6 anbefales**Seeding density**  $2 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> vil resultere i et sammenflytende monolag innen 7 dager.**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

## CERV-186-celler | 300290

### Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**CERV-186-celler | 300290****Shipping  
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage  
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA****Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

**STR-profil**

**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-alleler**

**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