

Komórki CERV-196 | 300291

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa MRI-H196, pochodząca z HPV16-dodatniego raka szyjki macicy, wykazuje unikalny profil ekspresji transkryptu HPV16, charakteryzujący się obecnością pełnej długości transkryptu L1 i wyraźnym brakiem pełnej długości RNA E5. Ten wzór sugeruje integrację genomu HPV16 w linii komórkowej, szczególnie wpływając na region E2 i powodując rearanżację sekwencji DNA L1. Brak ekspresji RNA o pełnej długości E5 wskazuje na zakłócenie transkrypcji wczesnego RNA o pełnej długości, które zwykle kończy się na sygnale poliadenylacji zlokalizowanym poniżej otwartej ramki odczytu (ORF) E5. Takie zaburzenie wskazuje na zintegrowany stan genomów HPV16, w których kluczowy region E2 - kluczowy dla replikacji wirusa i regulacji transkrypcji - jest często zagrożony podczas integracji z genomem gospodarza. To zaburzenie potencjalnie wpływa na ekspresję genów niższego rzędu, w tym E5.

Zjawisko integracji w komórkach MRI-H196 podkreśla złożoność zachowania genomu HPV16 po integracji, podkreślając użyteczność linii komórkowej w badaniu złożoności genomowych i transkrypcyjnych związanych z integracją HPV w raku szyjki macicy. Zrozumienie tej dynamiki ma kluczowe znaczenie dla wglądu w mechanizmy onkogenezy i progresji nowotworów związanych z HPV, czyniąc linię komórkową MRI-H196 cennym zasobem dla badań medycznych i biologicznych.

Organism

Człowiek

Tissue

Szyjka macicy

Disease

Rak płaskonabłonkowy

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

49 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Afrykański

Morphology

Podobny do nabłonka

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

CERV-196 (numer katalogowy Cytion 300291)

Komórki CERV-196 | 300291

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5721

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u nagich myszy
Viruses	HPV-16 dodatni
Products	Cytokeratyna 8, 18, wimentyna

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:6
Seeding density	Zaleca się 1×10^4 komórek/cm ² .
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Komórki CERV-196 | 300291**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki CERV-196 | 300291**Freezing Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Komórki CERV-196 | 300291

Allele HLA

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