

Komórki CERV-186 | 300290**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa CERV-186, uzyskana in vitro z ksenotransplantacji raka szyjki macicy MRI-H-186, służy jako biologiczny model inwazyjnego, wielkomórkowego, nierogowaciejącego raka płaskonabłonkowego. Ta linia komórkowa została stworzona i przystosowana do transplantacji in vivo pod kierunkiem dr Bodgena w Mason Research Institute. Charakteryzując się właściwościami genomowymi, MRI-H186 zawiera około 26 zintegrowanych kopii zarówno pełnej długości, jak i skróconych form genomu HPV16, które znacząco wpływają na jego profil transkryptomyczny.

Komórki MRI-H186 wyróżniają się silną ekspresją zarówno pełnej długości, jak i skróconych wczesnych transkryptów HPV16, w szczególności wykazując wysoki poziom RNA pełnej długości E5 (fl). Ta sygnatura transkrypcyjna znacznie różni się od tej obserwowanej w innych liniach komórkowych raka szyjki macicy, takich jak CaSki i MRI-H196. Dodatkowo, aktywność transkrypcyjna MRI-H186, pod względem ekspresji różnych innych transkryptów, wykazuje ścisłe dopasowanie do wzorców obserwowanych w liniach komórkowych HPK-IA i C3, wskazując na podobne zachowanie transkrypcyjne w tych modelach. Obecność zarówno pełnej długości, jak i skróconych integracji genomowych HPV16 w komórkach MRI-H186 jest kluczowym czynnikiem w ich intensywnej ekspresji wczesnych transkryptów wirusa, szczególnie podkreślonej przez znaczącą ekspresję E5 fl RNA. Ta intensywna aktywność transkrypcyjna kończy się na wczesnym sygnale poliadenylacji, podkreślając unikalną dynamikę transkrypcji w linii komórkowej MRI-H186.

Organism Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Rak płaskonabłonkowy**Synonyms** Cerv-186, MRI-H-186, MRI-H186**Charakterystyka****Age** 42 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Afrykański**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki CERV-186 | 300290**Citation** CERV-186 (numer katalogowy Cytion 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Viruses** HPV-16 dodatni**Products** Cytokeratyna 8, 18, wimentyna, desmoplakina**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 NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupelnic podloze 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. Odrzuć 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** 2×10^4 komórek/cm² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 7 dni.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Komórki CERV-186 | 300290**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 próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ 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% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki CERV-186 | 300290

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 fiolki 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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: 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

Komórki CERV-186 | 300290

Allele HLA

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