

Células CERV-196 | 300291**Informações gerais****Description**

A linha celular MRI-H196, derivada de carcinoma cervical HPV16-positivo, apresenta um perfil de expressão de transcritos HPV16 único, caracterizado pela presença do transcrito L1 completo e uma ausência marcada do ARN E5 completo. Este padrão sugere uma integração do genoma do HPV16 na linha celular, afectando particularmente a região E2 e causando um rearranjo da sequência de ADN L1. A ausência de expressão do ARN completo E5 indica uma perturbação na transcrição de ARNs precoces completos, que normalmente terminam no sinal de poliadenilação localizado a jusante do quadro de leitura aberta (ORF) E5. Esta perturbação é indicativa do estado integrado dos genomas do HPV16, em que a região E2 crucial - chave para a replicação viral e regulação da transcrição - é frequentemente comprometida durante a integração no genoma do hospedeiro. Esta perturbação tem potencialmente impacto na expressão de genes a jusante, incluindo o E5.

Este fenómeno de integração nas células MRI-H196 realça a complexidade do comportamento do genoma do HPV16 após a integração, enfatizando a utilidade da linha celular no estudo das complexidades genómicas e transcricionais associadas à integração do HPV nos carcinomas cervicais. A compreensão desta dinâmica é crucial para a compreensão dos mecanismos de oncogénese e da progressão dos cancros associados ao HPV, tornando a linha celular MRI-H196 um recurso valioso para a investigação médica e biológica.

Organism

Humano

Tissue

Colo do útero

Disease

Carcinoma de células escamosas

Synonyms

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

Caraterísticas**Age**

49 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Africano

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

CERV-196 (número de catálogo Cytion 300291)

Células CERV-196 | 300291**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Viruses** HPV-16 positivo**Products** Citoqueratina 8, 18, Vimentina**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** Recomenda-se 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células CERV-196 | 300291

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células CERV-196 | 300291

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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