

## Células CERV-186 | 300290

## Informações gerais

## Description

A linha celular CERV-186, derivada in vitro do xenotransplante do carcinoma cervical MRI-H-186, serve de modelo biológico para o carcinoma de células escamosas invasivo, de grandes células e não queratinizante. Esta linha celular foi estabelecida e adaptada para transplante in vivo sob a direção do Dr. Bodgen no Mason Research Institute. Caracterizada pelas suas propriedades genómicas, a MRI-H186 contém aproximadamente 26 cópias integradas de formas completas e truncadas do genoma do HPV16, que influenciam significativamente o seu perfil transcriptómico.

As células MRI-H186 distinguem-se pela sua expressão robusta de transcrições iniciais do HPV16, tanto completas como truncadas, apresentando nomeadamente níveis elevados de ARN E5 completo (fl). Esta assinatura transcricional é notavelmente distinta da observada noutras linhas celulares de carcinoma cervical, como CaSki e MRI-H196. Além disso, a atividade transcricional da MRI-H186, em termos da expressão de vários outros transcritos, apresenta um alinhamento próximo com os padrões observados nas linhas celulares HPK-IA e C3, indicando um comportamento transcricional semelhante nestes modelos. A presença de integrações genómicas de HPV16, tanto completas como truncadas, nas células MRI-H186 é um fator-chave na sua expressão vigorosa de transcritos virais iniciais, particularmente sublinhada pela expressão significativa de RNA fl E5. Esta intensa atividade transcricional culmina no sinal de poliadenilação precoce, realçando a dinâmica transcricional única na linha celular MRI-H186.

**Organism** Humano

**Tissue** Colo do útero

**Disease** Carcinoma de células escamosas

**Synonyms** Cerv-186, MRI-H-186, MRI-H186

## Caraterísticas

**Age** 42 anos

**Gender** Feminino

**Ethnicity** Africano

**Morphology** De tipo epitelial

**Growth properties** Aderente

## Dados regulamentares

**Células CERV-186 | 300290****Citation** CERV-186 (número de catálogo Cytion 300290)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_5720**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Viruses** HPV-16 positivo**Products** Citoqueratina 8, 18, Vimentina, Desmoplaquina**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 NaHCO<sub>3</sub> (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**  $2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> resultarão numa monocamada confluyente em 7 dias**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

## Células CERV-186 | 300290

### 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.

### 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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 x 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%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células CERV-186 | 300290

### 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.

### 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 inspeções visuais diárias.

### Alelos 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