

CERV-186-celler | 300290

Allmän information

Description

Cellinjen CERV-186, som härrör in vitro från xenotransplantation av livmoderhalscancer MRI-H-186, fungerar som en biologisk modell för invasiv, storcellig, icke-keratiniserande skivepitelcancer. Denna cellinje etablerades och anpassades för in vivo-transplantation under ledning av Dr Bodgen vid Mason Research Institute. MRI-H186 kännetecknas av sina genomiska egenskaper och innehåller cirka 26 integrerade kopior av både fullängds- och trunkerade former av HPV16-genomet, vilket avsevärt påverkar dess transkriptomiska profil.

MRI-H186-celler utmärker sig genom sitt robusta uttryck av både fullängds- och trunkerade tidiga HPV16-transkript, och uppvisar särskilt höga nivåer av E5 fullängds-RNA (fl). Denna transkriptionella signatur skiljer sig markant från den som observerats i andra cellinjer för livmoderhalscancer, såsom CaSki och MRI-H196. Dessutom visar den transkriptionella aktiviteten hos MRI-H186, i termer av uttryck av olika andra transkript, en nära anpassning till de mönster som observerats i HPK-IA- och C3-cellinjerna, vilket indikerar ett liknande transkriptionellt beteende i dessa modeller. Förekomsten av både fullängds- och trunkerade genomiska integrationer av HPV16 i MRI-H186-celler är en nyckelfaktor för deras kraftiga uttryck av tidiga virala transkript, vilket särskilt understryks av det betydande uttrycket av E5 fl RNA. Denna intensiva transkriptionsaktivitet kulminerar vid den tidiga polyadenyleringssignalen, vilket belyser den unika transkriptionsdynamiken inom MRI-H186-cellinjen.

Organism

Människan

Tissue

Cervix

Disease

Skivepitelcancer

Synonyms

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

Egenskaper

Age

42 år

Gender

Kvinna

Ethnicity

Afrikanska

Morphology

Epitelliknande

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

CERV-186-celler | 300290**Citation** CERV-186 (Cytion katalognummer 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Biomolekylära data****Tumorigenic** Ja, i nakna möss**Viruses** HPV-16 positiv**Products** Cytokeratin 8, 18, Vimentin, Desmoplakin**Hantering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:2 till 1:6 rekommenderas**Seeding density** 2×10^4 celler/cm² resulterar i ett konfluent monolager inom 7 dagar.**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Post-Thaw Recovery** Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

CERV-186-celler | 300290

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

CERV-186-celler | 300290

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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