

Bunky CERV-186 | 300290**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia CERV-186, odvodená in vitro z xenotransplantátu karcinómu krčka maternice MRI-H-186, slúži ako biologický model pre invazívny veľkobunkový nekeratinizujúci spinocelulárny karcinóm. Táto bunková línia bola vytvorená a prispôbená na transplantáciu in vivo pod vedením Dr. Bodgena v Mason Research Institute. MRI-H186, charakterizovaná svojimi genomickými vlastnosťami, obsahuje približne 26 integrovaných kópií genómu HPV16 v plnej dĺžke aj skrátených foriem, ktoré významne ovplyvňujú jej transkriptomický profil.

Bunky MRI-H186 sa vyznačujú silnou expresiou transkriptov HPV16 v plnej aj skrátenej dĺžke, pričom vykazujú najmä vysoké hladiny RNA E5 v plnej dĺžke (fl). Tento transkripčný podpis sa výrazne líši od transkripčného podpisu pozorovaného v iných bunkových liniách karcinómu krčka maternice, ako sú CaSki a MRI-H196. Okrem toho transkripčná aktivita MRI-H186, pokiaľ ide o expresiu rôznych iných transkriptov, vykazuje blízkú zhodu so vzormi pozorovanými v bunkových liniách HPK-IA a C3, čo naznačuje podobné transkripčné správanie v týchto modeloch. Prítomnosť genomických integrácií HPV16 v plnej dĺžke aj skrátených integrácií HPV16 v bunkách MRI-H186 je kľúčovým faktorom ich intenzívnej exprese skorých vírusových transkriptov, čo podčiarkuje najmä výrazná expresia fl RNA E5. Táto intenzívna transkripčná aktivita vrcholí pri signáli včasnej polyadenylácie, čo zdôrazňuje jedinečnú transkripčnú dynamiku v rámci bunkovej línie MRI-H186.

Organism

Ľudské

Tissue

Cervix

Disease

Spinocelulárny karcinóm

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

42 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

African

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

CERV-186 (katalógové číslo Cytion 300290)

Bunky CERV-186 | 300290**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach**Viruses** HPV-16 pozitívny**Products** Cytokeratín 8, 18, Vimentín, Desmoplakin**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 2×10^4 buniek/cm² bude mať za následok konfluentnú monovrstvu do 7 dní.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prílúť aspoň 24 hodín.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky CERV-186 | 300290

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky CERV-186 | 300290

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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