

CERV-186 celice | 300290

Splošne informacije

Description

Celična linija CERV-186, pridobljena in vitro iz ksenotransplantacije karcinoma materničnega vratu MRI-H-186, služi kot biološki model za invazivni, velikocelični, nekeratinizirajoči ploščatocelični karcinom. Ta celična linija je bila vzpostavljena in prilagojena za presaditev in vivo pod vodstvom Dr. Bodgena na raziskovalnem inštitutu Mason. Za MRI-H186 je značilno, da vsebuje približno 26 integriranih kopij genoma HPV16 v polni dolžini in skrajšanih oblik, kar pomembno vpliva na njen transkriptomski profil.

Celice MRI-H186 se odlikujejo po močnem izražanju zgodnjih transkriptov HPV16 polne dolžine in skrajšanih transkriptov, zlasti z visoko stopnjo RNK polne dolžine E5 (fl). Ta transkripcijski podpis se pomembno razlikuje od tistega, ki ga opazamo pri drugih celičnih linijah karcinoma materničnega vratu, kot sta CaSki in MRI-H196. Poleg tega se transkripcijska aktivnost MRI-H186 v smislu izražanja različnih drugih transkriptov močno ujema z vzorci, opaženimi v celičnih linijah HPK-IA in C3, kar kaže na podobno transkripcijsko vedenje v teh modelih. Prisotnost genomskih integracij HPV16 v celicah MRI-H186 v polni in skrajšani dolžini je ključni dejavnik za njihovo močno izražanje zgodnjih virusnih transkriptov, kar še posebej poudarja znatno izražanje RNA fl E5. Ta intenzivna transkripcijska aktivnost doseže vrhunec pri zgodnjem signalu poliadenilacije, kar poudarja edinstveno transkripcijsko dinamiko v celični liniji MRI-H186.

Organism

Človek

Tissue

Maternični vrat

Disease

Ploščatocelični karcinom

Synonyms

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

Značilnosti

Age

42 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Afriški

Morphology

Epitelijam podobni

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

CERV-186 (katalogska številka Cytion 300290)

CERV-186 celice | 300290

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5720

Biomolekularni podatki

Tumorigenic Da, na golih miših

Viruses HPV-16 pozitiven

Products Citokeratin 8, 18, vimentin, desmoplakin

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 2×10^4 celic/cm² bo v 7 dneh povzročilo konfluentno monoslojno plast.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

CERV-186 celice | 300290

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

CERV-186 celice | 300290

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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