

CERV-186 Hücreleri | 300290**Genel bilgi****Description**

Servikal karsinom MRI-H-186'nın xenotransplantından in vitro olarak türetilen CERV-186 hücre hattı, invaziv, büyük hücreli, keratinize olmayan skuamöz hücreli karsinom için biyolojik bir model görevi görmektedir. Bu hücre hattı, Mason Araştırma Enstitüsü'nde Dr. Bodgen'in yönetiminde in vivo transplantasyon için kurulmuş ve uyarlanmıştır. Genomik özellikleri ile karakterize edilen MRI-H186, HPV16 genomunun hem tam uzunlukta hem de kesilmiş formlarının yaklaşık 26 entegre kopyasını içerir ve bu da transkriptomik profilini önemli ölçüde etkiler.

MRI-H186 hücreleri, hem tam uzunlukta hem de kesilmiş erken HPV16 transkriptlerinin güçlü ekspresyonu ile ayırt edilir ve özellikle yüksek seviyelerde E5 tam uzunlukta (fl) RNA sergiler. Bu transkripsiyonel imza, CaSki ve MRI-H196 gibi diğer servikal karsinom hücre hatlarında gözlemlenenden belirgin şekilde farklıdır. Ayrıca, MRI-H186'nın transkripsiyonel aktivitesi, çeşitli diğer transkriptlerin ifadesi açısından, HPK-IA ve C3 hücre hatlarında gözlemlenen modellerle yakın bir uyum göstermekte ve bu modeller arasında benzer bir transkripsiyonel davranışa işaret etmektedir. MRI-H186 hücrelerinde hem tam uzunlukta hem de kesilmiş HPV16 genomik entegrasyonlarının varlığı, özellikle E5 fl RNA'nın önemli ölçüde ekspresyonu ile vurgulanan erken viral transkriptlerin güçlü ekspresyonunda önemli bir faktördür. Bu yoğun transkripsiyonel aktivite erken poliadenilasyon sinyalinde doruğa ulaşarak MRI-H186 hücre hattındaki benzersiz transkripsiyonel dinamikleri vurgulamaktadır.

Organism İnsan**Tissue** Serviks**Disease** Skuamöz hücreli karsinom**Synonyms** Cerv-186, MRI-H-186, MRI-H186**Özellikler****Age** 42 yıl**Gender** Kadın**Ethnicity** Afrika**Morphology** Epitel benzeri**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler**

CERV-186 Hücreleri | 300290

Citation CERV-186 (Cytion katalog numarası 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720

Biyomoleküler Veriler

Tumorigenic Evet, çıplak farelerde**Viruses** HPV-16 pozitif**Products** Sitokeratin 8, 18, Vimentin, Desmoplakin

Elleçleme

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820400a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Seeding density** 2×10^4 hücre/cm², 7 gün içinde birleşik tek tabaka oluşturacaktır.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

CERV-186 Hücreleri | 300290**Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

CERV-186 Hücreleri | 300290

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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