

Клітини CERV-196 | 300291

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія MRI-H196, отримана з ВПЛ16-позитивної карциноми шийки матки, демонструє унікальний профіль експресії транскрипту ВПЛ16, що характеризується наявністю повнорозмірного транскрипту L1 і помітною відсутністю повнорозмірної РНК E5. Така картина свідчить про інтеграцію геному ВПЛ16 в клітинну лінію, зокрема, в ділянку E2, що спричиняє перебудову послідовності ДНК L1. Відсутність експресії повнорозмірної РНК E5 вказує на порушення транскрипції повнорозмірних раних РНК, які зазвичай завершуються на сигналі поліаденілювання, розташованому нижче за течією від відкритої рамки зчитування (ORF) E5. Таке порушення свідчить про інтегрований стан геномів ВПЛ16, де ключова ділянка E2 - ключова для вірусної реплікації та регуляції транскрипції - часто порушується під час інтеграції в геном хазяїна. Це порушення потенційно впливає на експресію наступних генів, включаючи E5.

Цей феномен інтеграції в клітинах MRI-H196 підкреслює складність поведінки геному ВПЛ16 після інтеграції, що робить цю клітинну лінію корисною для вивчення геномних і транскрипційних тонкощів, пов'язаних з інтеграцією ВПЛ в карциноми шийки матки. Розуміння цієї динаміки має вирішальне значення для розуміння механізмів онкогенезу та прогресування ВПЛ-асоційованих раків, що робить клітинну лінію MRI-H196 цінним ресурсом для медико-біологічних досліджень.

Organism

Людина

Tissue

Шийка матки

Disease

Плоскоклетинний рак

Synonyms

Cerv-196, MRI-H-196, MRI-H196

Характеристики

Age

49 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Африканський

Morphology

Епітеліальноподібні

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Клітини CERV-196 | 300291

Citation CERV-196 (номер за каталогом Cytion 300291)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721

Біомолекулярні дані

Tumorigenic Так, у голих мишей**Viruses** ВПЛ-16 позитивний**Products** Цитокератин 8, 18, Віментин

Обробка

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO₃ (цит. номер 820400a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хг протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Seeding density** Рекомендується 1×10^4 клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Клітини CERV-196 | 300291

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Клітини CERV-196 | 300291

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

A*: '02:xx, '03:01:01

B*: '07:02:01, '51:01:01G

C*: '07:02:01, '15:02:01

DRB1*: '07:01:01, '09:01:02G

DQA1*: '02:01:01, '03:02:01

DQB1*: '02:02:01, '03:03:02

DPB1*: '04:02:01, '11:01:01

E: '01:03:02