

Клітини CERV-186 | 300290

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія CERV-186, отримана in vitro з ксенотрансплантата карциноми шийки матки MRI-H-186, слугує біологічною моделлю інвазивної, великоклітинної, неороговілої плоскоклітинної карциноми. Ця клітинна лінія була створена та адаптована для трансплантації in vivo під керівництвом доктора Бодгена в Науково-дослідному інституті Мейсона. За своїми геномними властивостями MRI-H186 містить приблизно 26 інтегрованих копій як повної, так і усіченої форми геному ВПЛ16, які суттєво впливають на її транскриптомний профіль.

Клітини MRI-H186 відрізняються сильною експресією як повнорозмірних, так і усічених ранніх транскриптів ВПЛ16, особливо високим рівнем повнорозмірної (fl) РНК E5. Цей транскрипційний підпис помітно відрізняється від того, що спостерігається в інших клітинних лініях карциноми шийки матки, таких як CaSki і MRI-H196. Крім того, транскрипційна активність MRI-H186, з точки зору експресії різних інших транскриптів, демонструє тісне узгодження з патернами, що спостерігаються в клітинних лініях НРК-ІА і С3, що вказує на подібну транскрипційну поведінку в цих моделях. Наявність як повнорозмірних, так і усічених геномних інтеграцій ВПЛ16 в клітинах MRI-H186 є ключовим фактором активної експресії ними ранніх вірусних транскриптів, що особливо підкреслюється значною експресією E5 fl РНК. Ця інтенсивна транскрипційна активність досягає кульмінації при ранньому сигналі поліаденілювання, підкреслюючи унікальну транскрипційну динаміку в клітинній лінії MRI-H186.

Organism Людина

Tissue Шийка матки

Disease Плоскоклітинний рак

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

Характеристики

Age 42 роки

Gender Жінка

Ethnicity Африканський

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Клітини CERV-186 | 300290

Citation CERV-186 (номер за каталогом Cytion 300290)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5720

Біомолекулярні дані

Tumorigenic Так, у голих мишей

Viruses ВПЛ-16 позитивний

Products Цитокератин 8, 18, Віментин, Десмоплакін

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 300хg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density 2×10^4 клітин/см² призведе до утворення конфлюентного моношару протягом 7 днів

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-186 | 300290**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, зануривши 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

Hi

Клітини CERV-186 | 300290

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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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