

Cellules CERV-196 | 300291

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire MRI-H196, dérivée d'un carcinome cervical positif au VPH16, présente un profil d'expression des transcrits du VPH16 unique, caractérisé par la présence du transcrit L1 complet et une absence marquée de l'ARN E5 complet. Ce profil suggère une intégration du génome du VPH16 au sein de la lignée cellulaire, affectant particulièrement la région E2 et provoquant un réarrangement de la séquence d'ADN de L1. L'absence d'expression de l'ARN complet de E5 indique une perturbation de la transcription des ARN précoces complets, qui se terminent habituellement au niveau du signal de polyadénylation situé en aval du cadre de lecture ouvert (ORF) de E5. Une telle perturbation est révélatrice de l'état d'intégration des génomes du VPH16, où la région E2 cruciale — essentielle à la réplication virale et à la régulation de la transcription — est souvent compromise lors de l'intégration dans le génome de l'hôte. Cette perturbation peut avoir une incidence sur l'expression des gènes en aval, y compris le gène E5.

Ce phénomène d'intégration au sein des cellules MRI-H196 met en évidence la complexité du comportement du génome du VPH16 après l'intégration, soulignant ainsi l'utilité de cette lignée cellulaire pour l'étude des subtilités génomiques et transcriptionnelles associées à l'intégration du VPH dans les carcinomes du col de l'utérus. La compréhension de ces dynamiques est essentielle pour mieux cerner les mécanismes de l'oncogenèse et la progression des cancers associés au VPH, ce qui fait de la lignée cellulaire MRI-H196 une ressource précieuse pour la recherche médicale et biologique.

Organism

Humain

Tissue

Col de l'utérus

Disease

Carcinome épidermoïde

Synonyms

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

Caractéristiques

Age

49 ans

Gender

Femme

Ethnicity

africain

Morphology

De type épithélial

Growth properties

Adepté

Données réglementaires

Cellules CERV-196 | 300291**Citation** CERV-196 (numéro de catalogue Cytion 300291)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Données biomoléculaires****Tumorigenic** Oui, chez les souris nues**Viruses** Positif au VPH-16**Products** Cytokératine 8, 18, vimentine**Manipulation****Culture Medium** DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO_3 (référence Cytion 820400a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Seeding density** Il est recommandé d'utiliser une concentration de 1×10^4 cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Post-Thaw Recovery** Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Cellules CERV-196 | 300291

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules CERV-196 | 300291

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.