

Cellules CERV-186 | 300290

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire CERV-186, dérivée in vitro d'une xénogreffe du carcinome cervical MRI-H-186, sert de modèle biologique pour le carcinome épidermoïde invasif à grandes cellules non kératinisant. Cette lignée cellulaire a été établie et adaptée à la transplantation in vivo sous la direction du Dr Bodgen à l'Institut de recherche Mason. Caractérisée par ses propriétés génomiques, la lignée MRI-H186 contient environ 26 copies intégrées du génome du VPH16, sous forme complète et tronquée, ce qui influence considérablement son profil transcriptomique.

Les cellules MRI-H186 se distinguent par leur forte expression des transcrits précoces du HPV16, tant complets que tronqués, affichant notamment des niveaux élevés d'ARN E5 complet (fl). Cette signature transcriptionnelle se distingue nettement de celle observée dans d'autres lignées cellulaires de carcinome cervical telles que CaSki et MRI-H196. De plus, l'activité transcriptionnelle de MRI-H186, en termes d'expression de divers autres transcrits, présente une grande similitude avec les profils observés dans les lignées cellulaires HPK-1A et C3, ce qui indique un comportement transcriptionnel similaire entre ces modèles. La présence d'intégrations génomiques à la fois complètes et tronquées du VPH16 dans les cellules MRI-H186 est un facteur clé de leur expression vigoureuse des transcrits viraux précoces, particulièrement mise en évidence par l'expression significative de l'ARN E5 fl. Cette intense activité transcriptionnelle culmine au niveau du signal de polyadénylation précoce, mettant en évidence la dynamique transcriptionnelle unique au sein de la lignée cellulaire MRI-H186.

Organism

Humain

Tissue

Col de l'utérus

Disease

Carcinome épidermoïde

Synonyms

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

Caractéristiques

Age

42 ans

Gender

Femme

Ethnicity

africain

Morphology

De type épithélial

Growth properties

Adepté

Données réglementaires

Cellules CERV-186 | 300290

Citation	CERV-186 (numéro de catalogue Cytion 300290)
----------	--

Biosafety level	2
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_5720
----------------------	-----------

Données biomoléculaires

Tumorigenic	Oui, chez les souris nues
-------------	---------------------------

Viruses	Positif au VPH-16
---------	-------------------

Products	Cytokératine 8, 18, vimentine, desmoplakine
----------	---

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	Une concentration de 2×10^4 cellules/cm ² permettra d'obtenir une monocouche confluente en 7 jours.
-----------------	---

Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
---------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm ² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
--------------------	---

Cellules CERV-186 | 300290

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-186 | 300290

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.