

Células CERV-196 | 300291**Informações gerais****Description**

A linhagem celular MRI-H196, derivada de um carcinoma cervical positivo para o HPV16, apresenta um perfil de expressão de transcritos do HPV16 único, caracterizado pela presença do transcrito L1 de comprimento total e pela ausência acentuada do RNA E5 de comprimento total. Esse padrão sugere uma integração do genoma do HPV16 na linha celular, afetando particularmente a região E2 e causando um rearranjo da sequência de DNA do L1. A ausência de expressão do RNA de comprimento total do E5 indica uma interrupção na transcrição dos RNAs precoces de comprimento total, que normalmente terminam no sinal de poliadenilação localizado a jusante do quadro de leitura aberto (ORF) do E5. Tal interrupção é indicativa do estado integrado dos genomas do HPV16, em que a região E2 — crucial para a replicação viral e a regulação da transcrição — é frequentemente comprometida durante a integração no genoma do hospedeiro. Essa interrupção pode afetar a expressão de genes a jusante, incluindo o E5.

Esse fenômeno de integração nas células MRI-H196 destaca a complexidade do comportamento do genoma do HPV16 pós-integração, enfatizando a utilidade da linhagem celular no estudo das complexidades genômicas e transcricionais associadas à integração do HPV em carcinomas cervicais. Compreender essas dinâmicas é crucial para obter insights sobre os mecanismos de oncogênese e a progressão dos cânceres associados ao HPV, tornando a linhagem celular MRI-H196 um recurso valioso para pesquisas médicas e biológicas.

Organism

Humano

Tissue

Colô, do útero

Disease

Carcinoma de células escamosas

Synonyms

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

Características**Age**

49 anos

Gender

Mulher

Ethnicity

africano

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulatórios

Células CERV-196 | 300291**Citation** CERV-196 (número de catálogo da Cytion 300291)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5721**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em camundongos nude**Viruses** Positivo para o HPV-16**Products** Citoqueratina 8, 18, vimentina**Manuseio****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion 820400a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** Recomenda-se 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Células CERV-196 | 300291

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células CERV-196 | 300291

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.