

Células CERV-186 | 300290**Informações gerais****Description**

A linhagem celular CERV-186, derivada in vitro do xenotransplante do carcinoma cervical MRI-H-186, serve como modelo biológico para o carcinoma espinocelular invasivo, de células grandes e não queratinizante. Essa linhagem celular foi estabelecida e adaptada para transplante in vivo sob a direção do Dr. Bodgen no Mason Research Institute. Caracterizada por suas propriedades genômicas, a MRI-H186 contém aproximadamente 26 cópias integradas do genoma do HPV16, tanto na forma completa quanto na forma truncada, o que influencia significativamente seu perfil transcriptômico.

As células MRI-H186 se distinguem pela expressão robusta de transcritos precoces do HPV16, tanto na forma completa quanto na truncada, apresentando notavelmente altos níveis de RNA E5 na forma completa (fl). Essa assinatura transcricional é notavelmente distinta daquela observada em outras linhagens celulares de carcinoma cervical, como CaSki e MRI-H196. Além disso, a atividade transcricional das células MRI-H186, em termos da expressão de várias outras transcrições, apresenta um alinhamento próximo com os padrões observados nas linhagens celulares HPK-1A e C3, indicando um comportamento transcricional semelhante entre esses modelos. A presença de integrações genômicas do HPV16 tanto na forma completa quanto na truncada nas células MRI-H186 é um fator-chave para sua expressão vigorosa de transcritos virais precoces, particularmente destacada pela expressão significativa do RNA E5 fl. Essa intensa atividade transcricional culmina no sinal de poliadenilação precoce, destacando a dinâmica transcricional única dentro da linha celular MRI-H186.

Organism

Humano

Tissue

Colô, do útero

Disease

Carcinoma de células escamosas

Synonyms

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

Características**Age**

42 anos

Gender

Mulher

Ethnicity

africano

Morphology

De tipo epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulatórios

Células CERV-186 | 300290**Citation** CERV-186 (número de catálogo da Cytion 300290)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5720**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em camundongos nude**Viruses** Positivo para o HPV-16**Products** Citoqueratina 8, 18, vimentina, desmoplaquina**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** 2×10^4 células/cm² resultarão em uma monocamada confluenta em 7 dias**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-186 | 300290

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-186 | 300290

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.