CERV-186

300290

GENERAL INFORMATION

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-IA 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.

Tissue	Colô, do útero
Disease	Carcinoma de células escamosas

Synonyms

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

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
Biosafety level	2

CHARACTERISTICS

Morphology	De tipo epitelial
Tumourigenic	Sim, em camundongos nude

IDENTIFIERS

Citation

CERV-186 (número de catálogo da Cytion 300290)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_5720

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Viruses

Positivo para o HPV-16

Products

Citoqueratina 8, 18, vimentina, desmoplaquina

HANDLING AND CULTURE

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 $NaHCO_3$ (número de artigo da Cytion 820400a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

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 x 10^4 células/cm^2 resultarão em uma monocamada confluente 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 x 10^4 células/cm^2 e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	42 anos
Ethnicity	africano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes