

Buňky SiHa | 305023

Obecné informace

Description

Buňky SiHa jsou buněčnou linií lidského dlaždicobuněčného karcinomu děložního hrdla, která se již několik desetiletí široce používá ve výzkumu. Byly izolovány z fragmentů primární děložní biopsie 55leté japonské pacientky se spinocelulárním karcinomem. Tato buněčná linie je díky svým jedinečným genetickým vlastnostem velmi zajímavá pro výzkumné pracovníky studující rakovinu děložního čípku a další příbuzná onemocnění.

Bylo zjištěno, že buňky SiHa exprimují geny p53+ a pRB+, které se podílejí na regulaci buněčného cyklu, opravách DNA a potlačování nádorů. Díky těmto genům jsou buňky SiHa ideálním modelem pro studium molekulárních mechanismů vývoje a progresu rakoviny. Buňky SiHa jsou navíc vhodným hostitelem pro transfekci, což z nich činí vynikající nástroj pro studium genové exprese.

Buňky SiHa mají hypertriploidní karyotyp s průměrným počtem chromozomů mezi 69 a 72. Buňky SiHa jsou HPV-16 pozitivní a vykazují integraci 1 až 2 kopií virového genomu na buňku. Buňky jsou tumorigenní a vytvářejí špatně diferencovaný epidermoidní karcinom (stupeň III) u nahých myší. To z nich činí vynikající model pro studium progresu rakoviny a testování protinádorových léčiv.

Buněčná linie SiHa exprimuje různé izoenzymy, včetně AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 a PGM3. Elektronová mikroskopie odhalila hojná tonofilamenta v cytoplazmě a desmosomy na buněčných spojích. Růstové vlastnosti buněk SiHa jsou adherentní, s dobou zdvojení 17 hodin v médiu s 10 % FBS a 21 hodin v médiu s 5 % FBS. Exprese molekul adheze epiteliálních buněk (EpCAM) je přítomna u 92 % buněk SiHa, což svědčí o jejich epiteliálním původu. Vykazují silnou expresi cytokeratinu, ale žádnou expresi vimentinu.

Organism

Člověk

Tissue

Cervix

Disease

Spinocelulární karcinom děložního hrdla spojený s lidským papilomavirem

Synonyms

Siha, SIHA

Charakteristika

Age

55 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Asijské

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherentní

Buňky SiHa | 305023

Regulační údaje

Citation	SiHa (katalogové číslo Cytion 305023)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0032

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano
-------------	-----

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1:2 až 1:4
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky SiHa | 305023

Thawing and
Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation
Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing
Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky SiHa | 305023

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 12

D13S317: 11

D16S539: 12

D5S818: 9

D7S820: 10

TH01: 6,9

TPOX: 8

vWA: 14,17

D3S1358: 16,17

D21S11: 31

D18S51: 15

Penta E: 10,12

Penta D: 9

D8S1179: 13,16

FGA: 21

D6S1043: 18

D2S1338: 24

D12S391: 19,22

D19S433: 14.2