

SiHa-celler | 305023

Generell informasjon

Description

SiHa-celler er en cellelinje fra humant livmorhalskreft med plateepitelkarsinom som har vært mye brukt i forskning i flere tiår. De ble isolert fra primære livmorbiopsifragmenter fra en 55 år gammel japansk kvinne med plateepitelkarsinom. Denne cellelinjen er av stor interesse for forskere som studerer livmorhalskreft og andre relaterte sykdommer på grunn av sine unike genetiske egenskaper.

Det har vist seg at SiHa-celler uttrykker p53+- og pRB+-genene, som er involvert i cellesyklusregulering, DNA-reparasjon og tumorundertrykkelse. Disse genene gjør SiHa-celler til en ideell modell for å studere de molekylære mekanismene bak kreftutvikling og -progresjon. I tillegg er SiHa-celler en egnet vert for transfeksjon, noe som gjør dem til et utmerket verktøy for genekspressionsstudier.

SiHa-celler har en hypertriploid karyotype, med et gjennomsnittlig kromosomtall på mellom 69 og 72. SiHa-cellene er HPV-16-positive, og viser integrasjon av 1 til 2 kopier av virusgenomet per celle. Cellene er tumorigene og danner dårlig differensiert epidermoid karsinom (grad III) i nakne mus. Dette gjør dem til en utmerket modell for studier av kreftprogresjon og testing av legemidler mot kreft.

SiHa-cellelinjen uttrykker ulike isoenzymer, blant annet AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 og PGM3. Elektronmikroskopi avslørte rikelig med tonofilamenter i cytoplasmaet og desmosomer ved celleovergangene. Vekstegenskapene til SiHa-celler er adherente, med en fordoblingstid på 17 timer i 10 % FBS-medium og 21 timer i 5 % FBS-medium. Epitelelleadhesjonsmolekyl (EpCAM) er til stede i 92 % av SiHa-cellene, noe som indikerer at de har epitelial opprinnelse. De viser sterkt cytokeratin-uttrykk, men ikke vimentin-uttrykk.

Organism

Menneskelig

Tissue

Livmorhalsen

Disease

Humant papillomavirus-relatert plateepitelkarsinom i livmorhalsen

Synonyms

Siha, SIHA

Kjennetegn

Age

55 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Asiatisk

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

SiHa-celler | 305023

Regulatoriske data

Citation	SiHa (Cytion-katalognummer 305023)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0032

Biomolekylære data

Tumorigenic	Ja
-------------	----

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO ₃ , m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	1:2 til 1:4
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

SiHa-celler | 305023

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

SiHa-celler | 305023

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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