

Ogniwa SiHa | 305023

Informacje ogólne

Description

Komórki SiHa to ludzka linia komórkowa raka płaskonabłonkowego szyjki macicy, która jest szeroko stosowana w badaniach od kilku dekad. Zostały one wyizolowane z pierwotnych fragmentów biopsji macicy 55-letniej japońskiej pacjentki z rakiem płaskonabłonkowym. Ta linia komórkowa jest bardzo interesująca dla naukowców badających raka szyjki macicy i inne powiązane choroby ze względu na ich unikalne cechy genetyczne.

Stwierdzono, że komórki SiHa wykazują ekspresję genów p53+ i pRB+, które są zaangażowane w regulację cyklu komórkowego, naprawę DNA i supresję nowotworów. Geny te sprawiają, że komórki SiHa są idealnym modelem do badania molekularnych mechanizmów rozwoju i progresji nowotworów. Dodatkowo, komórki SiHa są odpowiednim gospodarzem do transfekcji, co czyni je doskonałym narzędziem do badań ekspresji genów.

Komórki SiHa mają kariotyp hipertriploidalny, ze średnią liczbą chromosomów pomiędzy 69 a 72. Komórki SiHa są HPV-16 dodatnie, wykazując integrację od 1 do 2 kopii genomu wirusa na komórkę. Komórki są nowotworowe, tworząc słabo zróżnicowanego raka naskórka (stopień III) u nagich myszy. Czyni je to doskonałym modelem do badania progresji raka i testowania leków przeciwnowotworowych.

Linia komórkowa SiHa wykazuje ekspresję różnych izoenzymów, w tym AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 i PGM3. Mikroskopia elektronowa ujawniła obfite tonofilamenty w cytoplazmie i desmosomy na połączeniach komórkowych. Właściwości wzrostu komórek SiHa są adherentne, z czasem podwojenia wynoszącym 17 godzin w pożywce 10% FBS i 21 godzin w pożywce 5% FBS. Ekspresja cząsteczki adhezji komórek nabłonkowych (EpCAM) jest obecna w 92% komórek SiHa, co wskazuje na ich nabłonkowe pochodzenie. Wykazują one silną ekspresję cytokeratyny, ale nie wykazują ekspresji wimentyny.

Organism

Człowiek

Tissue

Szyjka macicy

Disease

Rak płaskonabłonkowy szyjki macicy związany z wirusem brodawczaka ludzkiego

Synonyms

Siha, SIHA

Charakterystyka

Age

55 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Azjatycki

Morphology

Nabłonek

Growth properties

Adherent

Ogniwa SiHa | 305023

Dane regulacyjne

Citation	SiHa (numer katalogowy Cytion 305023)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0032

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak
-------------	-----

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Ogniwa SiHa | 305023

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ogniwa SiHa | 305023**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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