

Bunky SiHa | 305023

Všeobecné informácie

Description

Bunky SiHa sú bunkovou líniou ľudského skvamózneho karcinómu krčka maternice, ktorá sa vo výskume široko používa už niekoľko desaťročí. Boli izolované z fragmentov primárnej biopsie maternice od 55-ročnej japonskej pacientky so skvamocelulárnym karcinómom. Táto bunková línia je pre svoje jedinečné genetické vlastnosti veľmi zaujímavá pre výskumníkov skúmajúcich rakovinu krčka maternice a iné súvisiace ochorenia.

Zistilo sa, že bunky SiHa exprimujú gény p53+ a pRB+, ktoré sa podieľajú na regulácii bunkového cyklu, oprave DNA a potláčaní nádorov. Tieto gény robia z buniek SiHa ideálny model na štúdium molekulárnych mechanizmov vývoja a progresie rakoviny. Okrem toho sú bunky SiHa vhodným hostiteľom na transfekciu, čo z nich robí vynikajúci nástroj na štúdie expresie génov.

Bunky SiHa majú hypertriploidný karyotyp s priemerným počtom chromozómov 69 až 72. Bunky SiHa sú HPV-16 pozitívne a vykazujú integráciu 1 až 2 kópií vírusového genómu na bunku. Bunky sú nádorové a vytvárajú slabo diferencovaný epidermoidný karcinóm (stupeň III) u nahých myší. To z nich robí vynikajúci model na štúdium progresie rakoviny a testovanie protirakovinových liekov.

Bunková línia SiHa exprimuje rôzne izoenzymy vrátane AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 a PGM3. Elektrónová mikroskopia odhalila hojné tonofilamenty v cytoplazme a desmozómy na bunkových spojoch. Rastové vlastnosti buniek SiHa sú adherentné, s časom zdvojenia 17 hodín v 10 % FBS médiu a 21 hodín v 5 % FBS médiu. Expresia molekuly adhézie epitelových buniek (EpCAM) je prítomná v 92 % buniek SiHa, čo poukazuje na ich epitelový pôvod. Vykazujú silnú expresiu cytokeratínu, ale žiadnu expresiu vimentínu.

Organism

Ľudské

Tissue

Cervix

Disease

Skvamocelulárny karcinóm krčka maternice súvisiaci s ľudským papilomavírusom

Synonyms

SiHa, SIHA

Charakteristika

Age

55 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Ázijské

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherent

Bunky SiHa | 305023

Regulačné údaje

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

Biomolekulárne údaje

Tumorigenic	Áno
-------------	-----

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky SiHa | 305023

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky SiHa | 305023

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.