

Клетки SiHa | 305023

Обща информация

Description

Клетките SiHa са клетъчна линия за плоскоклетъчен карцином на шийката на матката, която се използва широко в научните изследвания от няколко десетилетия. Те са изолирани от фрагменти от първична биопсия на матката от 55-годишна японска пациентка с плоскоклетъчен карцином. Тази клетъчна линия представлява голям интерес за изследователите, изучаващи рака на маточната шийка и други свързани с него заболявания, поради уникалните си генетични характеристики.

Установено е, че SiHa клетките експресират гените p53+ и pRB+, които участват в регулирането на клетъчния цикъл, възстановяването на ДНК и потискането на тумора. Тези гени превръщат клетките SiHa в идеален модел за изучаване на молекулярните механизми на развитието и прогресията на рака. Освен това SiHa клетките са подходящ гостоприемник за трансфекция, което ги прави отличен инструмент за изследвания на генната експресия.

SiHa клетките имат хипертриплоиден кариотип със среден брой хромозоми между 69 и 72. Клетките SiHa са HPV-16 положителни, като показват интегриране на 1 до 2 копия на вирусния геном на клетка. Клетките са туморогенни, като образуват слабо диференциран епидермоиден карцином (степен III) в голи мишки. Това ги прави отличен модел за изучаване на прогресията на рака и тестване на противоракови лекарства.

Клетъчната линия SiHa експресира различни изоензими, включително AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 и PGM3. Електронната микроскопия разкрива изобилие от тонофиламенти в цитоплазмата и дезмосоми на клетъчните връзки. Клетките SiHa са адхезивни, като времето за удвояване е 17 часа в среда с 10 % FBS и 21 часа в среда с 5 % FBS. Експресията на молекулата на епителната клетъчна адхезия (EPCAM) е налице в 92 % от клетките SiHa, което показва техния епителен произход. Те показват силна експресия на цитокератин, но не и на виментин.

Organism Човек

Tissue Цервикс

Disease Свързан с човешкия папиломен вирус плоскоклетъчен карцином на маточната шийка

Synonyms Siha, SIHA

Характеристики

Age 55 години

Gender Жена

Ethnicity Азиатски

Morphology Епителиален

Клетки SiHa | 305023

Growth properties	Придържачи се
--------------------------	---------------

Регулаторни данни

Citation	SiHa (каталожен номер 305023 на Cytion)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0032
-----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да
--------------------	----

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
--------------------	---------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	---

Split ratio	от 1:2 до 1:4
--------------------	---------------

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Клетки SiHa | 305023

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки SiHa | 305023

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Профил на 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 февруари