

SiHa-celler | 305023

Generel information

Description

SiHa-celler er en cellelinje fra humant cervikalt pladecellekarcinom, som har været meget anvendt i forskning i flere årtier. De blev isoleret fra primære livmoderbiopsifragmenter fra en 55-årig kvindelig japansk patient med pladecellekarcinom. Denne cellelinje er af stor interesse for forskere, der studerer livmoderhalskræft og andre relaterede sygdomme på grund af deres unikke genetiske egenskaber.

Det har vist sig, at SiHa-celler udtrykker generne p53+ og pRB+, som er involveret i regulering af cellecyklus, DNA-reparation og tumorundertrykkelse. Disse gener gør SiHa-celler til en ideel model til undersøgelse af de molekylære mekanismer i kræftudvikling og -progression. Derudover er SiHa-celler en passende transfektionsvært, hvilket gør dem til et fremragende værktøj til genekspressionsstudier.

SiHa-celler har en hypertriploid karyotype med et gennemsnitligt kromosomtallet på mellem 69 og 72. SiHa-cellerne er HPV-16-positive og viser integration af 1 til 2 kopier af det virale genom pr. celle. Cellerne er tumorigeniske og danner dårligt differentierede epidermoide karcinomer (grad III) i nøgne mus. Det gør dem til en fremragende model til at studere kræftprogression og teste kræftmedicin.

SiHa-cellelinjen udtrykker forskellige isoenzymer, herunder AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 og PGM3. Elektronmikroskopi afslørede rigelige tonofilamenter i cytoplasmaet og desmosomer ved celleovergangene. SiHa-cellernes vækstegenskaber er adhærente med en fordoblingstid på 17 timer i 10% FBS-medier og 21 timer i 5% FBS-medier. Epithelial cell adhesion molecule (EPCAM) er til stede i 92% af SiHa-cellerne, hvilket indikerer deres epitheliale oprindelse. De viser stærk cytokeratin-ekspression, men ingen vimentin-ekspression.

Organism

Menneske

Tissue

Livmoderhalsen

Disease

Humant papillomavirus-relateret cervikal pladecellekarcinom

Synonyms

Siha, SIHA

Karakteristika

Age

55 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Asiatisk

Morphology

Epithelial

Growth properties

Vedhæftende

SiHa-celler | 305023

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Tumorigenic	Yeess
--------------------	-------

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	1:2 til 1:4
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

SiHa-celler | 305023

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

SiHa-celler | 305023

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

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. februar