Product sheet

Κύτταρα SiHa | 305023

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα SiHa είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά πλακώδους καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας που χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα εδώ και αρκετές δεκαετίες. Απομονώθηκαν από θραύσματα πρωτογενούς βιοψίας μήτρας από μια 55χρονη Γιαπωνέζα ασθενή με πλακώδες καρκίνωμα. Αυτή η κυτταρική σειρά παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για τους ερευνητές που μελετούν τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και άλλες συναφείς ασθένειες λόγω των μοναδικών γενετικών χαρακτηριστικών της. Έχει βρεθεί ότι τα κύτταρα SiHa εκφράζουν τα γονίδια p53+ και pRB+, τα οποία εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του DNA και την καταστολή των όγκων. Τα γονίδια αυτά καθιστούν τα κύτταρα SiHa ιδανικό μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών ανάπτυξης και εξέλιξης του καρκίνου. Επιπλέον, τα κύτταρα SiHa είναι κατάλληλος ξενιστής διαμόλυνσης, γεγονός που τα καθιστά εξαιρετικό εργαλείο για μελέτες γονιδιακής έκφρασης. Τα κύτταρα SiHa έχουν υπερτριπλοειδή καρυότυπο, με μέσο αριθμό χρωμοσωμάτων μεταξύ 69 και 72. Τα κύτταρα SiHa είναι θετικά στον HPV-16, παρουσιάζοντας ενσωμάτωση 1 έως 2 αντιγράφων του ιικού γονιδιώματος ανά κύτταρο. Τα κύτταρα είναι καρκινικά, σχηματίζοντας φτωχά διαφοροποιημένο επιδερμοειδές καρκίνωμα (βαθμού III) σε γυμνά ποντίκια. Αυτό τα καθιστά ένα εξαιρετικό μοντέλο για τη μελέτη της εξέλιξης του καρκίνου και τη δοκιμή αντικαρκινικών φαρμάκων. Η κυτταρική σειρά SiHa εκφράζει διάφορα ισοένζυμα, συμπεριλαμβανομένων των AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 και PGM3. Η ηλεκτρονική μικροσκοπία αποκάλυψε άφθονα τονοϊνίδια στο κυτταρόπλασμα και δεσμοσώματα στις κυτταρικές συνδέσεις. Οι ιδιότητες ανάπτυξης των κυττάρων SiHa είναι προσκολλητικές, με χρόνο διπλασιασμού 17 ώρες σε μέσο 10% FBS και 21 ώρες σε μέσο 5% FBS. Η έκφραση του μορίου προσκόλλησης επιθηλιακών κυττάρων (EpCAM) είναι παρούσα στο 92% των κυττάρων SiHa, υποδεικνύοντας την επιθηλιακή τους προέλευση. Παρουσιάζουν έντονη έκφραση κυτταροκερατίνης αλλά όχι έκφραση βιμεντίνης.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Τράχηλος μήτρας
Disease	Καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας που σχετίζεται με τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων
Synonyms	Siha, SIHA

Χαρακτηριστικά

Age	55 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Ασιατικό
Morphology	Επιθηλιακό

Κύτταρα SiHa | 305023

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic	Ναι

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1:2 έως 1:4
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα SiHa | 305023

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Κύτταρα SiHa | 305023

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
Προφίλ 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 Φεβρουαρίου