

SiHa rakud | 305023

Üldine teave

Description

SiHa rakud on inimese emakakaelavähi rakuliin, mida on teadusuuringutes laialdaselt kasutatud juba mitu aastakümnet. Need isoleeriti emaka primaarsetest biopsiafragmentidest, mis saadi 55-aastase Jaapani naissoost plaaïnakartsinoomiga patsiendilt. See rakuliin pakub suurt huvi emakakaelavähki ja teisi sellega seotud haigusi uurivatele teadlastele nende ainulaadsete geneetiliste omaduste tõttu.

On leitud, et SiHa rakud ekspresseerivad p53+ ja pRB+ geene, mis osalevad rakutsükli reguleerimises, DNA parandamises ja kasvajate pärssimises. Need geenid muudavad SiHa rakud ideaalseks mudeliks vähi arengu ja progresseerumise molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. Lisaks sellele on SiHa rakud sobivad transfektsiooni peremeheks, mis teeb neist suurepärase vahendi geeniekspressiooni uuringuteks.

SiHa rakkudel on hüpertriploidne karüotüüp, mille keskmine kromosoomide arv jääb vahemikku 69-72. SiHa rakud on HPV-16-positiivsed, näidates 1 kuni 2 koopiat viiruse genoomi integreerimist raku kohta. Rakud on kasvajalised, moodustades alasti hiirtel halvasti diferentseerunud epidermoidkartsinoomi (III aste). See teeb neist suurepärase mudeli vähi progresseerumise uurimiseks ja vähivastaste ravimite testimiseks.

SiHa rakuliin ekspresseerib erinevaid isoensüüme, sealhulgas AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 ja PGM3. Elektroonmikroskoopia näitas rohkesti toonofilamente tsütoplasmas ja desmosomeid rakkude liitekohtades. SiHa rakkude kasvuomadused on adherentsed, kahekordistumisajaga 17 tundi 10% FBS-keskkonnas ja 21 tundi 5% FBS-keskkonnas. Epiteelraku adhesioonimolekuli (EpCAM) ekspressioon on olemas 92%-l SiHa rakkudest, mis viitab nende epiteeli päritolule. Neil on tugev tsütokeratiini ekspressioon, kuid vimentini ekspressioon puudub.

Organism Inimene

Tissue Emakakael

Disease Inimese papilloomiviirusega seotud emakakaela lamerakk-kartsinoom

Synonyms Siha, SIHA

Omadused

Age 55 aastat

Gender Naised

Ethnicity Aasia

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

SiHa rakud | 305023

Regulatiivsed andmed

Citation	SiHa (Cytioni katalooginumber 305023)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0032

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Jah
--------------------	-----

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAaga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1:2 kuni 1:4
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SiHa rakud | 305023**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SiHa rakud | 305023

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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. veebruar