Product sheet

SiHa rakud | 305023

Üldine teave

Description	SiHa rakud on inimese emakakaelavähi rakuliin, mida on teadusuuringutes laialdaselt kasutatud juba mitu aastakümmet. Need isoleeriti emaka primaarsetest biopsiafragmentidest, mis saadi 55-aastase Jaapani naissoost plaatinakartsinoomiga 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 vimentiini 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 kataloginumber 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 NaHCO3, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SiHa rakud | 305023

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid 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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil 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