

SiHa-kennot | 305023

Yleisiä tietoja

Description

SiHa-solut ovat ihmisen kohdunkaulan levyepiteelisolusyöpäsolulinja, jota on käytetty laajalti tutkimuksessa useiden vuosikymmenien ajan. Ne eristettiin primaarisista kohdun koepaloista, jotka saatiin 55-vuotiaalta japanilaiselta naispotilaalta, jolla oli levyepiteelisolusyöpä. Tämä solulinja on erittäin kiinnostava kohdunkaulan syöpää ja muita siihen liittyviä sairauksia tutkiville tutkijoille niiden ainutlaatuisten geneettisten ominaisuuksien vuoksi.

SiHa-solujen on todettu ilmentävän p53+ ja pRB+-geenejä, jotka osallistuvat solusyklin säätelyyn, DNA:n korjaamiseen ja kasvainten tukahduttamiseen. Nämä geenit tekevät SiHa-soluista ihanteellisen mallin syövän kehittymisen ja etenemisen molekyylimekanismien tutkimiseen. Lisäksi SiHa-solut ovat sopivia transfektioisäntiä, mikä tekee niistä erinomaisen välineen geeniekspressiotutkimuksiin.

SiHa-soluilla on hypertriploidinen karyotyyppi, ja niiden keskimääräinen kromosomimäärä on 69-72. SiHa-solut ovat HPV-16-positiivisia, ja niissä on integroitunut 1-2 kopiota virusgenomia solua kohti. Solut ovat tumorigeenisiä, ja ne muodostavat huonosti erilaistunutta epidermoidista karsinoomaa (aste III) alasti elävissä hiirissä. Tämä tekee niistä erinomaisen mallin syövän etenemisen tutkimiseen ja syöpälääkkeiden testaamiseen.

SiHa-solulinja ilmentää erilaisia isoentsyymejä, kuten AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 ja PGM3. Elektronimikroskoopi paljasti runsaasti tonofilamenteja sytoplasmassa ja desmosomeja soluliitoksissa. SiHa-solujen kasvuominaisuudet ovat adherenttejä, ja niiden kaksinkertaistumisaika on 17 tuntia 10 %:n FBS-mediassa ja 21 tuntia 5 %:n FBS-mediassa. Epiteelisolujen adheesiomolekyylin (EpCAM) ilmentymistä esiintyy 92 prosentissa SiHa-soluista, mikä viittaa niiden epiteeliperäisyyteen. Sytokeraatiini ilmentyy voimakkaasti, mutta vimentini ei ilmenty.

Organism Ihminen

Tissue Kohdunkaula

Disease Ihmisen papilloomavirukseen liittyvä kohdunkaulan levyepiteelisyöpä

Synonyms Siha, SIHA

Ominaisuudet

Age 55 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Aasialainen

Morphology Epiteeli

SiHa-kennot | 305023

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	SiHa (Cytionin luettelonumero 305023)
-----------------	---------------------------------------

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

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

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

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic	Kyllä
--------------------	-------

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
--------------------	---

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

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

Split ratio	1:2 – 1:4
--------------------	-----------

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

SiHa-kennot | 305023

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

SiHa-kennot | 305023

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

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. helmikuuta