Product sheet

SiHa sejtek | 305023

Általános információk

Description	A SiHa sejtek egy humán méhnyak laphámsejtes karcinóma sejtvonal, amelyet több évtizede széles körben használnak a kutatásban. Egy 55 éves, laphámsejtes karcinómában szenvedő japán nőbeteg primer méhbiopsziás töredékeiből izolálták őket. Ez a sejtvonal egyedi genetikai jellemzői miatt nagy érdeklődésre tart számot a méhnyakrákot és más kapcsolódó betegségeket tanulmányozó kutatók számára. A SiHa sejtekről kiderült, hogy expresszálják a p53+ és pRB+ géneket, amelyek részt vesznek a sejtciklus szabályozásában, a DNS-javításban és a tumorszuppresszióban. Ezek a gének teszik a SiHa sejteket ideális modellé a rák kialakulásának és progressziójának molekuláris mechanizmusainak tanulmányozására. A SiHa sejtek emellett megfelelő transzfekciós gazdatestek, így kiváló eszköznek bizonyulnak a génexpressziós vizsgálatokhoz. A SiHa sejtek hipertriploid kariotípussal rendelkeznek, átlagos kromoszómaszáma 69 és 72 között van. A SiHa sejtek HPV-16 pozitívak, a vírusgenom 1-2 példányának integrációját mutatják sejtenként. A sejtek tumorigénak bizonyulnak, nude egerekben gyengén differenciált epidermoid karcinómát (III. fokozat) képeznek. Ez teszi őket kiváló modellé a rák progressziójának tanulmányozására és a rákellenes gyógyszerek tesztelésére. A SiHa sejtvonal különböző izoenzimeket expresszál, többek között AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 és PGM3. Az elektronmikroszkópia bőséges tonofilamentumokat mutatott ki a citoplazmában és deszmoszómákat a sejtek kapcsolódási pontjain. A SiHa sejtek növekedési tulajdonságai adherensek, a megduplázódási idő 10%-os FBS médiában 17 óra, 5%-os FBS médiában 21 óra. A SiHa sejtek 92%-ában jelen van az epiteliális sejtadhéziós molekula (EpCAM) expressziója, ami epiteliális eredetükre utal. Erős citokeratin expressziót mutatnak, de vimentin expressziót nem.
Organism	Emberi
Tissue	Cervix
Disease	Humán papillomavírussal összefüggő méhnyak laphámsejtes karcinóma
Synonyms	Siha, SIHA

Jellemzők

Age	55 év
Gender	Női
Ethnicity	Ázsiai
Morphology	Epithelialis

SiHa sejtek | 305023

Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic	Igen

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1:2–1:4
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

SiHa sejtek | 305023

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

SiHa sejtek | 305023

Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
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**: február 14.