Product sheet

SiHa ląstelės | 305023

Bendra informacija

Description	SiHa ląstelės yra žmogaus gimdos kaklelio plokščialąstelinės karcinomos ląstelių linija, kuri jau kelis dešimtmečius plačiai naudojama moksliniams tyrimams. Jos buvo išskirtos iš pirminių gimdos biopsijos fragmentų, gautų iš 55 metų japonės pacientės, sergančios plokščialąsteline karcinoma. Ši ląstelių linija dėl savo unikalių genetinių savybių yra labai svarbi mokslininkams, tiriantiems gimdos kaklelio vėžį ir kitas susijusias ligas. Nustatyta, kad SiHa ląstelės ekspresuoja p53+ ir pRB+ genus, kurie dalyvauja ląstelės ciklo reguliavime, DNR taisyme ir naviko slopinime. Dėl šių genų SiHa ląstelės yra idealus modelis vėžio vystymosi ir progresavimo molekuliniams mechanizmams tirti. Be to, SiHa ląstelės yra tinkamas transfekcijos šeimininkas, todėl jos yra puiki priemonė genų raiškos tyrimams. SiHa ląstelės turi hipertriploidinį kariotipą, vidutinis chromosomų skaičius yra 69-72. SiHa ląstelės yra teigiamos ŽPV-16 viruso atžvilgiu, o kiekvienoje ląstelėje yra 1-2 viruso genomo kopijos. Ląstelės yra tumorigeninės, nude pelių organizme formuoja blogai diferencijuotą epidermoidinę karcinomą (III laipsnio). Dėl to jos yra puikus modelis vėžio progresavimui tirti ir vaistams nuo vėžio išbandyti. SiHa ląstelių linija ekspresuoja įvairius izofermentus, įskaitant AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 ir PGM3. Elektroninės mikroskopijos metu nustatyta, kad citoplazmoje gausu tonofilamentų, o ląstelių jungtyse - desmosomų. SiHa ląstelės auga adherentiškai, jų augimo trukmė padvigubėja per 17 valandų 10 % FBS terpėje ir per 21 valandą 5 % FBS terpėje. Epitelinių ląstelių adhezijos molekulių (EpCAM) raišką turi 92 % SiHa ląstelių, o tai rodo, kad jos yra epitelinės kilmės. Joms būdinga stipri citokeratino raiška, tačiau nėra vimentino raiškos.
Organism	Žmogus
Tissue	Gimdos kaklelis
Disease	Su žmogaus papilomos virusu susijusi gimdos kaklelio plokščialąstelinė karcinoma
Synonyms	Siha, SIHA

Charakteristikos

Age	55 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Azijos
Morphology	Epitelis
Growth properties	Prigludęs

SiHa ląstelės | 305023

Reguliavimo duomenys

Citation	SiHa (Cytion katalogo numeris 305023)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0032

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic	Taip

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	nuo 1:2 iki 1:4
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

SiHa ląstelės | 305023

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

SiHa ląstelės | 305023

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
STR profilis	**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**: Vasario 14 d.