

## 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 molekuliniais 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** Priglundęs

## SiHa ląstelės | 305023

## Reguliavimo duomenys

<b>Citation</b>	SiHa (Cytion katalogo numeris 305023)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0032

## Biomolekuliniai duomenys

<b>Tumorigenic</b>	Taip
--------------------	------

## Tvarkymas

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
<b>Supplements</b>	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Split ratio</b>	nuo 1:2 iki 1:4
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kartus per savaitę
<b>Freeze medium</b>	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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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 perkelti 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti 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  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti 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 skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### 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.