Product sheet

SiHa šūnas | 305023

Vispārīga informācija

Description	SiHa šūnas ir cilvēka dzemdes kakla plakanšūnu karcinomas šūnu līnija, kas jau vairākus gadu desmitus tiek plaši izmantota pētniecībā. Tās tika izolētas no primārās dzemdes biopsijas fragmentiem no 55 gadus vecas japāņu pacientes ar plakanšūnu karcinomu. Šī šūnu līnija ir ļoti interesanta pētniekiem, kas pēta dzemdes kakla vēzi un citas ar to saistītas slimības, jo tai ir unikālas ģenētiskās īpašības. Ir konstatēts, ka SiHa šūnas ekspresē p53+ un pRB+ gēnus, kas ir iesaistīti šūnu cikla regulēšanā, DNS labošanā un audzēja nomākšanā. Šie gēni padara SiHa šūnas par ideālu modeli vēža attīstības un progresēšanas molekulāro mehānismu izpētei. Turklāt SiHa šūnas ir piemērots transfekcijas saimnieks, padarot tās par lielisku instrumentu gēnu ekspresijas pētījumiem. SiHa šūnām ir hipertriploīds kariotips ar vidējo hromosomu skaitu no 69 līdz 72 hromosomām. SiHa šūnas ir HPV-16 pozitīvas, un tajās ir integrētas 1 līdz 2 vīrusa genoma kopijas uz šūnu. Šūnas ir tumorigēnas, veidojot vāji diferencētu epidermoīdo karcinomu (III pakāpes) nude pelēm. Tas padara tās par lielisku modeli vēža progresēšanas izpētei un pretvēža zāļu testēšanai. SiHa šūnu līnija ekspresē dažādus izoenzīmus, tostarp AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 un PGM3. Elektronmikroskopija atklāja bagātīgus tonofilamentus citoplazmā un desmosomas šūnu savienojumos. SiHa šūnu augšanas īpašības ir adherentas, un to dubultošanās laiks ir 17 stundas 10 % FBS barotnē un 21 stunda 5 % FBS barotnē. Epitēlija šūnu adhēzijas molekulas (EpCAM) ekspresija ir 92 % SiHa šūnu, kas norāda uz to epitēlija izcelsmi. Tām ir izteikta citokeratīna ekspresija, bet nav vimentīna ekspresijas.
Organism	Cilvēks
Tissue	Dzemdes kakls
Disease	Ar cilvēka papilomas vīrusu saistīta dzemdes kakla plakanšūnu karcinoma
Synonyms	Siha, SIHA

Raksturojums

Age	55 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Āzijas
Morphology	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Product sheet

SiHa šūnas | 305023

Normatīvie dati

Citation	SiHa (Cytion kataloga numurs 305023)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0032

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1:2 līdz 1:4
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

SiHa šūnas | 305023

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
STR profils	**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. februāris