

SiHa-cellen | 305023

Algemene informatie

Description

SiHa cellen zijn een menselijke cervicaal plaveiselcelcarcinoom cellijn die al tientallen jaren veel gebruikt wordt in onderzoek. Ze werden geïsoleerd uit primaire uterusbiopsiefragmenten van een 55-jarige vrouwelijke Japanse patiënt met plaveiselcelcarcinoom. Deze cellijn is van groot belang voor onderzoekers die baarmoederhalskanker en andere gerelateerde ziekten bestuderen vanwege hun unieke genetische eigenschappen.

Van SiHa cellen is ontdekt dat ze de p53+ en pRB+ genen tot expressie brengen, die betrokken zijn bij celcyclusregulatie, DNA-herstel en tumorsuppressie. Deze genen maken SiHa cellen tot een ideaal model voor het bestuderen van de moleculaire mechanismen van kankerontwikkeling en -progressie. Daarnaast zijn SiHa cellen een geschikte gastheer voor transfectie, waardoor ze een uitstekend hulpmiddel zijn voor genexpressiestudies.

SiHa cellen hebben een hypertriploïd karyotype, met een gemiddeld chromosoomnummer tussen 69 en 72. De SiHa cellen zijn HPV-gevoelig. De SiHa cellen zijn HPV-16 positief en vertonen integratie van 1 tot 2 kopieën van het virale genoom per cel. De cellen zijn tumorigeen en vormen slecht gedifferentieerd epidermoïd carcinoom (graad III) in naakte muizen. Hierdoor zijn ze een uitstekend model voor het bestuderen van kankerprogressie en het testen van medicijnen tegen kanker.

De SiHa cellijn brengt verschillende iso-enzymen tot expressie, waaronder AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 en PGM3. Elektronenmicroscopie toonde overvloedige tonofilamenten in het cytoplasma en desmosomen bij de celovergangen. De groei-eigenschappen van SiHa cellen zijn adherent, met een verdubbelingstijd van 17 uur in 10% FBS media en 21 uur in 5% FBS media. Epitheliale cel adhesie molecuul (EpCAM) expressie is aanwezig in 92% van de SiHa cellen, wat duidt op hun epitheliale oorsprong. Ze vertonen een sterke cytokeratine-expressie maar geen vimentine-expressie.

Organism

Mens

Tissue

Baarmoederhals

Disease

Humaan papillomavirus-gerelateerd cervicaal plaveiselcelcarcinoom

Synonyms

Siha, SIHA

Kenmerken

Age

55 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Aziatisch

Morphology

Epitheel

SiHa-cellen | 305023

Growth properties	Aanhangend
--------------------------	------------

Regelgevende gegevens

Citation	SiHa (Cytion catalogusnummer 305023)
-----------------	--------------------------------------

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

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

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

Biomoleculaire gegevens

Tumorigenic	Ja
--------------------	----

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
--------------------	---

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

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
---------------------	---

Split ratio	1:2 tot 1:4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
----------------------	--

SiHa-cellen | 305023

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

SiHa-cellen | 305023

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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. Feb