

Células SiHa | 305023

Informações gerais

Description

As células SiHa são uma linha celular de carcinoma de células escamosas do colo do útero humano que tem sido amplamente utilizada na investigação há várias décadas. Foram isoladas a partir de fragmentos de biopsia uterina primária de uma doente japonesa de 55 anos com carcinoma espinocelular. Esta linha celular é de grande interesse para os investigadores que estudam o cancro do colo do útero e outras doenças relacionadas, devido às suas características genéticas únicas.

Verificou-se que as células SiHa expressam os genes p53+ e pRB+, que estão envolvidos na regulação do ciclo celular, na reparação do ADN e na supressão de tumores. Estes genes fazem das células SiHa um modelo ideal para estudar os mecanismos moleculares do desenvolvimento e progressão do cancro. Além disso, as células SiHa são um hospedeiro de transfecção adequado, o que as torna uma excelente ferramenta para estudos de expressão genética.

As células SiHa têm um cariótipo hipertriplóide, com um número médio de cromossomas entre 69 e 72. As células SiHa são positivas para o HPV-16, apresentando uma integração de 1 a 2 cópias do genoma viral por célula. As células são tumorigénicas, formando carcinoma epidermoide pouco diferenciado (grau III) em ratinhos nus. Isto torna-as um excelente modelo para o estudo da progressão do cancro e para o teste de medicamentos anticancerígenos.

A linha celular SiHa expressa várias isoenzimas, incluindo AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 e PGM3. A microscopia eletrónica revelou tonofilamentos abundantes no citoplasma e desmossomas nas junções celulares. As propriedades de crescimento das células SiHa são aderentes, com um tempo de duplicação de 17 horas em meio com 10% de FBS e 21 horas em meio com 5% de FBS. A expressão da molécula de adesão de células epiteliais (EpCAM) está presente em 92% das células SiHa, indicando a sua origem epitelial. Apresentam uma forte expressão de citoqueratina, mas não apresentam expressão de vimentina.

Organism Humano

Tissue Colo do útero

Disease Carcinoma de células escamosas do colo do útero relacionado com o papilomavírus humano

Synonyms Siha, SIHA

Caraterísticas

Age 55 anos

Gender Feminino

Ethnicity Asiático

Morphology Epitelial

Células SiHa | 305023

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dados regulamentares

Citation	SiHa (número de catálogo Cytion 305023)
-----------------	---

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

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

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

Dados biomoleculares

Tumorigenic	Sim
--------------------	-----

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
--------------------	--

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

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
---------------------	--

Split ratio	1:2 a 1:4
--------------------	-----------

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células SiHa | 305023

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células SiHa | 305023

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil STR

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 de fevereiro