Product sheet

Changovy jaterní buňky (HeLa) | 300139

Obecné informace

Description	Buněčná linie Chang Liver, o níž se původně předpokládalo, že pochází z normální lidské jaterní tkáně, prošla na základě pokročilého genetického profilování významnou reklasifikací. Techniky profilování DNA pomocí STR PCR prokázaly, že buněčná linie Chang Liver je k nerozeznání od buněčné linie HeLa, což naznačuje, že není odvozena z hepatocytárních buněk, jak se dříve předpokládalo, ale spíše by měla být považována za derivát HeLa. Toto zjištění má důležité důsledky pro výzkumné pracovníky, kteří tuto buněčnou linii používají, a zdůrazňuje potřebu pečlivé interpretace experimentálních výsledků získaných při jejím použití. Buňky HeLa, původně odebrané černošce Henriettě Lacksové na počátku 50. let 20. století, jsou známé svým robustním růstem a genetickou stabilitou in vitro, což jsou vlastnosti, které jsou vzhledem ke genetické podobnosti pravděpodobně společné buněčné linii Chang Liver. Z těchto souvislostí vyplývá, že studie využívající buněčnou linii Chang Liver ve výzkumu souvisejícím s funkcí nebo onemocněním jater bude možná nutné přehodnotit nebo potvrdit pomocí dalších modelů specifických pro hepatocyty. Chybná identifikace také poukazuje na širší problémy v praxi buněčných kultur, včetně křížové kontaminace a chybného značení, a zdůrazňuje význam pravidelného ověřování pravosti buněčných linií používaných ve výzkumných zařízeních.
Organism	Člověk
Tissue	Játra
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	Chang-játra, Chang buňky, Chang, CHL

Charakteristika

Age	30 let
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	Changova játra (HeLa) (katalogové číslo Cytion 300139)
Biosafety level	1

Changovy jaterní buňky (HeLa) | 300139

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0238

Biomolekulární data

Isoenzymes	G6PD, A
Tumorigenic	Ano, u syrských křečků
Viruses	Vyšetření na MHV (virus myší hepatitidy) negativní
Virus susceptibility	Poliovirus 1, 2, 3, adenovirus 3, vezikulární stomatitida (Indiana)
Reverse transcriptase	Negativní
Products	Keratin

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2 vytvoří konfluentní vrstvu za přibližně 4 dny.

Changovy jaterní buňky (HeLa) | 300139

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný

Changovy jaterní buňky (HeLa) | 300139

Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10 **D13S317**: 12,13.3 **D16S539**: 9,10 **D5S818**: 12 **D7S820**: 8,12 **TH01**: 7 **TPOX**: 8,12 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 15,18 **D21S11**: 27,28 **D18S51**: 16 **Penta E**: 7,17 **Penta D**: 8,15 **D8S1179**: 12,13 **FGA**: 21

Changovy jaterní buňky (HeLa) | 300139

Alely HLA	**A***: '68:02:01 **B***: '15:03:01 **C***: '12:03:01 **DRB1***: '01:02:01 **DQA1***: '01:01:02 **DQB1***: '05:01:01 **DPB1***: '01:01:01 **E**: '01:03:02