

Chang máj (HeLa) sejtek | 300139

Általános információk

Description

A Chang Liver sejtvonal, amelyről eredetileg azt hitték, hogy normális emberi májszövetből származik, a fejlett genetikai profilalkotást követően jelentős átminősítéssel ment keresztül. Az STR PCR DNS-profilalkotási technikák kimutatták, hogy a Chang Liver sejtvonal megkülönböztethetetlen a HeLa sejtvonaltól, ami arra utal, hogy nem a korábban feltételezett hepatocita sejtekből származik, hanem inkább HeLa-származéknak kell tekinteni. Ez a felfedezés fontos következményekkel jár az ezt a sejtvonalat használó kutatók számára, hangsúlyozva a használatából származó kísérleti eredmények gondos értelmezésének szükségességét.

A HeLa sejtek, amelyeket eredetileg Henrietta Lacks fekete nőtől nyertek az 1950-es évek elején, robusztus növekedésükről és genetikai stabilitásukról ismertek in vitro, amely tulajdonságok valószínűleg a Chang Liver sejtvonallal is közösek, tekintettel annak genetikai hasonlóságára. Ez a háttér szükségessé teszi, hogy a Chang Liver sejtvonalat a májfunkcióval vagy májbetegségekkel kapcsolatos kutatásokban alkalmazó tanulmányokat újra kell értékelni vagy további hepatocita-specifikus modellekkel kell megerősíteni. A téves azonosítás rávilágít a sejtenyészési gyakorlatok szélesebb körű problémáira is, beleértve a keresztszennyeződést és a félrecímkézést, ami hangsúlyozza a kutatási környezetben használt sejtvonalak rendszeres hitelesítésének fontosságát.

Organism Emberi

Tissue Máj

Disease Adenokarcinóma

Synonyms Chang-máj, Chang-sejtek, Chang, CHL

Jellemzők

Age 30 év

Gender Női

Morphology Epithelszerű

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation Chang máj (HeLa) (Cytion katalógusszám: 300139)

Biosafety level 1

Chang máj (HeLa) sejtek | 300139

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0238

Biomolekuláris adatok

Isoenzymes G6PD, A

Tumorigenic Igen, szíriai hörcsögökben

Viruses MHV (egérhepatitis vírus) negatív

Virus susceptibility Poliovírus 1, 2, 3, adenovírus 3, hólyagos szájgyulladás (Indiana)

Reverse transcriptase Negatív

Products Keratin

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm² körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

Chang máj (HeLa) sejtek | 300139**Post-Thaw Recovery**

Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Chang máj (HeLa) sejtek | 300139**Freezing Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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