Product sheet

Čanga aknu (HeLa) šūnas | 300139

Vispārīga informācija

Description	Čanga aknu šūnu līnija, par kuru sākotnēji tika uzskatīts, ka tā iegūta no normāliem cilvēka aknu audiem, ir būtiski pārklasificēta pēc uzlabotas ģenētiskās profilēšanas. STR PCR DNS profilēšanas metodes ir pierādījušas, ka Chang aknu šūnu līnija neatšķiras no HeLa šūnu līnijas, kas liecina, ka tā nav iegūta no hepatocītu šūnām, kā uzskatīts iepriekš, bet drīzāk uzskatāma par HeLa atvasinājumu. Šim atklājumam ir svarīga ietekme uz pētniekiem, kas izmanto šo šūnu līniju, uzsverot nepieciešamību rūpīgi interpretēt eksperimentālos rezultātus, kas iegūti, izmantojot šo šūnu līniju. HeLa šūnas, kas sākotnēji 1950. gadu sākumā tika iegūtas no melnādainās sievietes Henriettas Lacks, ir pazīstamas ar savu spēcīgo augšanu un ģenētisko stabilitāti in vitro, un šīs īpašības, visticamāk, piemīt arī Čanga aknu šūnu līnijai, ņemot vērā tās ģenētisko līdzību. Šī iemesla dēļ pētījumi, kuros izmanto Chang aknu šūnu līniju ar aknu darbību vai slimībām saistītos pētījumos, iespējams, būs jāpārvērtē vai jāapstiprina, izmantojot papildu hepatocītiem specifiskus modeļus. Kļūdainā identifikācija arī norāda uz plašākām problēmām šūnu kultūru praksē, tostarp krustenisko kontamināciju un nepareizu marķēšanu, uzsverot, cik svarīgi ir regulāri pārbaudīt pētniecībā izmantoto šūnu līniju autentiskumu.
Organism	Cilvēks
Tissue	Aknas
Disease	Adenokarcinoma
Synonyms	Chang aknas, Chang šūnas, Chang, Chang, CHL

Raksturojums

Age	30 gadi
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	Čanga aknas (HeLa) (Cytion kataloga numurs 300139)
Biosafety level	1

Čanga aknu (HeLa) šūnas | 300139

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0238

Biomolekulārie dati

Isoenzymes	G6PD, A
Tumorigenic	Jā, Sīrijas kāmjiem
Viruses	MHV (peļu hepatīta vīrusa) tests negatīvs
Virus susceptibility	Poliovīruss 1, 2, 3, adenovīruss 3, vezikulārais stomatīts (Indiana)
Reverse transcriptase	Negatīvs
Products	Keratīns

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.
Seeding density	1 x 10^4 šūnas/cm^2 veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

Čanga aknu (HeLa) šūnas | 300139

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
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

Čanga aknu (HeLa) šūnas | 300139

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.
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.
HLA alēles	**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