

Komórki wątroby Chang (HeLa) | 300139

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa Chang Liver, pierwotnie uważana za pochodzącą z normalnej ludzkiej tkanki wątroby, została poddana znaczącej reklasyfikacji po zaawansowanym profilowaniu genetycznym. Techniki profilowania DNA STR PCR wykazały, że linia komórkowa Chang Liver jest nie do odróżnienia od linii komórkowej HeLa, co sugeruje, że nie pochodzi ona z komórek hepatocytów, jak wcześniej sądzono, ale raczej powinna być uważana za pochodną HeLa. Odkrycie to ma ważne implikacje dla badaczy korzystających z tej linii komórkowej, podkreślając potrzebę ostrożnej interpretacji wyników eksperymentów uzyskanych przy jej użyciu.

Komórki HeLa, pierwotnie pobrane od Henrietty Lacks, czarnoskórej kobiety, we wczesnych latach pięćdziesiątych XX wieku, znane są z silnego wzrostu i stabilności genetycznej in vitro, cech prawdopodobnie wspólnych z linią komórkową Chang Liver, biorąc pod uwagę jej podobieństwo genetyczne. W związku z tym badania wykorzystujące linię komórkową Chang Liver w badaniach związanych z funkcjonowaniem lub chorobami wątroby mogą wymagać ponownej oceny lub potwierdzenia za pomocą dodatkowych modeli specyficznych dla hepatocytów. Błędna identyfikacja uwypukla również szersze kwestie związane z praktykami hodowli komórkowych, w tym zanieczyszczenie krzyżowe i niewłaściwe oznakowanie, podkreślając znaczenie regularnego uwierzytelniania linii komórkowych wykorzystywanych w badaniach.

Organism Człowiek

Tissue Wątroba

Disease Gruczolakorak

Synonyms Wątroba Chang, komórki Chang, Chang, CHL

Charakterystyka

Age 30 lat

Gender Kobieta

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation Wątroba Chang (HeLa) (numer katalogowy Cytion 300139)

Biosafety level 1

Komórki wątroby Chang (HeLa) | 300139**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0238**Dane biomolekularne****Isoenzymes** G6PD, A**Tumorigenic** Tak, u chomików syryjskich**Viruses** Wynik testu na obecność MHV (mysiego wirusa zapalenia wątroby) ujemny**Virus susceptibility** Poliowirus 1, 2, 3, adenowirus 3, pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana)**Reverse transcriptase** Negatywny**Products** Keratyna**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8**Seeding density** 1×10^4 komórek/cm² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.

Komórki wątroby Chang (HeLa) | 300139**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki wątroby Chang (HeLa) | 300139

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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

Komórki wątroby Chang (HeLa) | 300139

Allele 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