

Changove pečňové bunky (HeLa) | 300139

Všeobecné informácie

Description

Bunková línia Chang Liver, o ktorej sa pôvodne predpokladalo, že pochádza z normálneho ľudského pečňového tkaniva, prešla po pokročilom genetickom profilovaní významnou reklasifikáciou. Techniky profilovania DNA pomocou STR PCR preukázali, že bunkovú líniu Chang Liver nemožno rozlíšiť od bunkovej línie HeLa, čo naznačuje, že nie je odvodená z hepatocytových buniek, ako sa predtým predpokladalo, ale mala by sa skôr považovať za derivát HeLa. Toto zistenie má dôležité dôsledky pre výskumníkov, ktorí používajú túto bunkovú líniu, a zdôrazňuje potrebu starostlivej interpretácie experimentálnych výsledkov získaných z jej použitia.

Bunky HeLa, pôvodne odobraté černoške Henriette Lacksovej začiatkom 50. rokov 20. storočia, sú známe svojím robustným rastom a genetickou stabilitou in vitro, čo sú vlastnosti, ktoré má pravdepodobne aj bunková línia Chang Liver vzhľadom na jej genetickú podobnosť. Toto pozadie si vyžaduje, aby sa štúdie využívajúce bunkovú líniu Chang Liver vo výskume týkajúcom sa funkcie alebo ochorenia pečene možno museli prehodnotiť alebo potvrdiť pomocou ďalších modelov špecifických pre hepatocyty. Nesprávna identifikácia tiež poukazuje na širšie problémy v praxi bunkových kultúr vrátane krížovej kontaminácie a nesprávneho označovania, čo zdôrazňuje dôležitosť pravidelného overovania pravosti bunkových línií používaných vo výskumných zariadeniach.

Organism Ľudské

Tissue Pečeň

Disease Adenokarcinóm

Synonyms Chang-liver, Chang Cells, Chang, CHL

Charakteristika

Age 30 rokov

Gender Ženy

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation Changova pečň (HeLa) (katalógové číslo Cytion 300139)

Biosafety level 1

Changove pečeňové bunky (HeLa) | 300139

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0238

Biomolekulárne údaje

Isoenzymes G6PD, A

Tumorigenic Áno, u sýrskych škrečkov

Viruses Testovaný MHV (vírus myšej hepatitídy) negatívny

Virus susceptibility Poliovírus 1, 2, 3, adenovírus 3, vezikulárna stomatitída (Indiana)

Reverse transcriptase Negatívne

Products Keratín

Spracovanie

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

Supplements Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1 x 10⁴ buniek/cm² vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

Changove pečeňové bunky (HeLa) | 300139**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Changove pečeňové bunky (HeLa) | 300139

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

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