

## Celice Changovih jeter (HeLa) | 300139

## Splošne informacije

## Description

Celična linija Chang Liver, za katero se je prvotno domnevalo, da izhaja iz normalnega človeškega jetrnega tkiva, je bila po naprednem genetskem profiliranju bistveno prerazvrščena. Tehnike profiliranja DNK s STR PCR so pokazale, da se celična linija Chang Liver ne razlikuje od celične linije HeLa, kar kaže, da ne izhaja iz celic hepatocitov, kot je veljalo prej, temveč jo je treba obravnavati kot derivat HeLa. To razkritje ima pomembne posledice za raziskovalce, ki uporabljajo to celično linijo, saj poudarja potrebo po skrbni razlagi eksperimentalnih rezultatov, pridobljenih z njeno uporabo.

Celice HeLa, ki so bile v začetku petdesetih let prejšnjega stoletja odvzete temnopolti ženski Henrietti Lacks, so znane po močni rasti in genetski stabilnosti in vitro, kar so lastnosti, ki jih ima verjetno tudi celična linija Chang Liver glede na njeno genetsko podobnost. Zaradi tega je treba študije, ki uporabljajo celično linijo Chang Liver v raziskavah, povezanih z delovanjem ali boleznimi jeter, ponovno oceniti ali potrditi z dodatnimi modeli, specifičnimi za hepatocite. Napačna identifikacija opozarja tudi na širša vprašanja v praksah celičnih kultur, vključno z navzkrižno kontaminacijo in napačnim označevanjem, kar poudarja pomen rednega preverjanja pristnosti celičnih linij, ki se uporabljajo v raziskovalnih okoljih.

**Organism** Človek

**Tissue** Jetra

**Disease** Adenokarcinom

**Synonyms** Chang-jetra, Chang Celice, Chang, CHL

## Značilnosti

**Age** 30 let

**Gender** Ženske

**Morphology** Epitelijam podobni

**Growth properties** Pripadajoče

## Regulativni podatki

**Citation** Changova jetra (HeLa) (kataloška številka Cytion 300139)

**Biosafety level** 1

**Celice Changovih jeter (HeLa) | 300139**

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_0238

**Biomolekularni podatki**

Isoenzymes G6PD, A

Tumorigenic Da, pri sirskih hrčkih

Viruses Preizkus MHV (virus mišjega hepatitisa) negativen

Virus susceptibility Poliovirus 1, 2, 3, adenovirus 3, vezikularni stomatitis (Indiana)

Reverse transcriptase Negativni

Products Keratin

**Ravnanje s spletno stranjo**Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup> bo v približno 4 dneh oblikovalo konfluentno plast.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

**Celice Changovih jeter (HeLa) | 300139****Post-Thaw Recovery**

Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti  $5 \times 10^4$  cel<sup>ic</sup>/cm<sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

**Freeze medium**

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150$  °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37$  °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation Atmosphere**

$37$  °C, 5 % CO<sub>2</sub>, vlažno ozračje.

**Flask Coating**

Nič

## Celice Changovih jeter (HeLa) | 300139

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

### Aleli 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