

Клетки HBL-100 | 300178

Обща информация

Description

HBL-100 е човешка епителна клетъчна линия на гърдата, която първоначално е получена от кърмата на кърмеща майка. Млякото е събрано три дни след раждането и въпреки че няма данни за увреждане на гърдата при донора и няма фамилна анамнеза за рак на гърдата, клетките показват аномален кариотип до пасаж 7. Тази клетъчна линия се отличава със способността си да синтезира малко количество лактоза и да реагира на стимулация с пролактин или естроген, като увеличава производството на казеин. Микроскопските анализи, като например електронните микрографии, потвърждават наличието на микровили, тонофибрили и десмосоми в тези клетки, което подчертава типичните им епителни характеристики.

Въпреки това, клетъчната линия HBL-100 се сблъска със значителни усложнения по отношение на нейното идентифициране и характеризирание. Установено е, че тя съдържа Y-хромозома, което предполага погрешна идентификация, тъй като първоначално се е смятало, че клетъчната линия е от женски произход. Допълнителни усложнения възникват от наличието на геномни последователности SV40 в клетъчната линия, което противоречи на по-ранните мнения, че тя е спонтанно имортализирана. Тези открития доведоха до дебати относно произхода и генетичния състав на HBL-100, което я прави проблематична клетъчна линия за изследвания без задълбочено потвърждение на нейните характеристики и произход.

Organism

Човек

Tissue

Гърди

Disease

Карцином

Synonyms

HBL 100, HBL100

Характеристики

Age

27 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Подобни на епител

Growth properties

Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Клетки HBL-100 | 300178

Citation	HBL-100 (каталожен номер 300178 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4362

Биомолекулярни данни

Antigen expression	HLA A1, A10, A11, B7, B8
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, ES-D, 1, Me-2, 0, GLO-1, 2, AK-1, 1-2, фенотип Честота на продукта: 0.0008
Tumorigenic	Да, при голи мишки. При нива на пасаж под 35 линията не е туморогенна при голи мишки, но образува колонии в мек агар. Съобщава се, че туморогенността се увеличава над пасаж 35.
Viruses	Клетките съдържат тамденно интегриран геном на SV40, за който се съобщава, че може да съдържа ретровирус от тип D, който е подобен или идентичен с вируса на маймуната Мейсън-Пфайзер (MPMV).
Reverse transcriptase	Положителен
Ploidy status	Анеуплоидни
MSI-status	Стабилен (MSS)
Karyotype	Броят на хромозомите в стъблото е близък до триплоидния, като модалният брой е 67 хромозоми, а компонентът 2S се среща в 0,6 %. Повечето хромозомни комплекси се състоят от около 39 нормални и 28 маркерни хромозоми. Маркери като 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt и много други са характерни за повечето метафази. Нормалните хромозоми 11, 14, 15 и 16 отсъстват. 2, 12, 17 и 19 са монозомични, а х е дизомична. ДНК профилирането за амелогенин, специфичен за половите хромозоми PCR тест, който може да разграничи продуктите, специфични за х хромозомите, от продуктите, специфични за Y хромозомите, разкрива наличието на Y хромозоми в тази клетъчна линия с предполагаем женски произход. Потвърждаването на общите констатации е извършено чрез оцветяване с QM, C-бандиране и FISH с цяла хромозомна боядисана сонда към човешката Y хромозома.

Работа с

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820200a)
-----------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Клетки HBL-100 | 300178

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HBL-100 | 300178

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HBL-100 | 300178

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '08:01:01, '40:01:02
C*: '03:04:01, '07:01:01
DRB1*: '03:01:01, '15:01:01
DQA1*: '01:02:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01:01, '06:02:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01, '01:03