

Buňky HBL-100 | 300178

Obecné informace

Description

HBL-100 je linie lidských prsních epitelálních buněk původně získaná z mateřského mléka kojící matky. Mléko bylo odebráno tři dny po porodu, a přestože dárkyně neměla žádné známky poškození prsu a v rodinné anamnéze se nevyskytovala rakovina prsu, buňky vykazovaly abnormální karyotyp v 7. pasáži. Tato buněčná linie se vyznačuje schopností syntetizovat malé množství laktózy a reagovat na stimulaci prolaktinem nebo estrogenem zvýšením produkce kaseinu. Mikroskopické analýzy, například elektronové mikrofotografie, potvrdily přítomnost mikrovilů, tonofibril a desmosomů v těchto buňkách, což zvýrazňuje jejich typické epitelální vlastnosti.

Buněčná linie HBL-100 se však setkala se značnými komplikacemi, pokud jde o její identifikaci a charakterizaci. Bylo zjištěno, že obsahuje chromozom Y, což naznačuje chybnou identifikaci, neboť se původně předpokládalo, že buněčná linie je ženského původu. Další komplikace vyplývají z přítomnosti genomových sekvencí SV40 v buněčné linii, což je v rozporu s dřívějším přesvědčením, že byla spontánně immortalizována. Tato zjištění vedla k diskusím o původu a genetické výbavě HBL-100, což z ní bez důkladného ověření jejích vlastností a původu činí problematickou buněčnou linii pro výzkum.

Organism Člověk

Tissue Prsa

Disease Karcinom

Synonyms HBL 100, HBL100

Charakteristika

Age 27 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation HBL-100 (katalogové číslo Cytion 300178)

Buňky HBL-100 | 300178**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4362**Biomolekulární data****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, Fenotyp Frekvenční produkt: 0.0008**Tumorigenic** Ano, na nahých myších. Při pasáži nižší než 35 není linie u nahých myší tumorigenní, ale tvoří kolonie v měkkém agaru. Bylo zjištěno, že nad pasáží 35 se tumorigenita zvyšuje.**Viruses** Buňky obsahují tandemem integrovaný genom SV40 a bylo zjištěno, že mohou obsahovat retrovirus typu D, který je podobný nebo identický s virem opice Mason-Pfizer (MPMV).**Reverse transcriptase** Pozitivní**Ploidy status** Aneuploidní**MSI-status** Stabilní (MSS)**Karyotype** Počet kmenových chromozomů se blíží triploidnímu počtu s modálním počtem 67 chromozomů, přičemž složka 2S se vyskytuje v 0,6 %. Většina chromozomových kompletů se skládá z přibližně 39 normálních a 28 markerových chromozomů. Markery jako 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt a mnoho dalších jsou společné pro většinu metafází. Normální chromozomy 11, 14, 15 a 16 chybí. 2, 12, 17 a 19 jsou monosomické a x je disomický. Profilování DNA na amelogenin, PCR test specifický pro pohlavní chromozomy, který dokáže odlišit produkty specifické pro chromozom x od produktů specifických pro chromozom Y, odhalilo přítomnost chromozomu Y v této buněčné linii domnělého ženského původu. Potvrzení obecných nálezů bylo provedeno barvením QM, C-bandingem a FISH s celochromozomovou barvou se sondou na lidský Y chromozom.**Zpracování****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS

Buňky HBL-100 | 300178**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2**Seeding density** 1×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HBL-100 | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HBL-100 | 300178**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y

CSF1PO: 10

D13S317: 12

D16S539: 9,12

D5S818: 11,12

D7S820: 8,12

TH01: 6,8

TPOX: 8

vWA: 16

D3S1358: 14,16

D21S11: 28,30

D18S51: 16

Penta E: 7

Penta D: 12

D8S1179: 12,15

FGA: 25

Alely HLA

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