

HBL-100-celler | 300178

Generel information

Description

HBL-100 er en human brystepitelcellelinje, der oprindeligt stammer fra en ammende mors brystmælk. Mælken blev indsamlet tre dage efter fødslen, og på trods af at der ikke var tegn på en brystlæsion hos donoren og ingen familiehistorie med brystkræft, udviste cellerne en unormal karyotype ved passage 7. Denne cellelinje er bemærkelsesværdig for sin evne til at syntetisere en lille mængde laktose og til at reagere på prolaktin- eller østrogenstimulering ved at øge produktionen af kasein. Mikroskopiske analyser, såsom elektronmikrografier, har bekræftet tilstedeværelsen af mikrovilli, tonofibriller og desmosomer i disse celler, hvilket fremhæver deres typiske epitheliale egenskaber.

HBL-100-cellelinjen er dog stødt på betydelige komplikationer i forbindelse med dens identifikation og karakterisering. Den viste sig at indeholde et Y-kromosom, hvilket tyder på en fejlidentifikation, da man oprindeligt troede, at cellelinjen var af kvindelig oprindelse. Yderligere kompleksitet opstår fra tilstedeværelsen af SV40-genomsekvenser i cellelinjen, hvilket modsiger tidligere overbevisninger om, at den var spontant udødeliggjort. Disse fund har ført til debatter om oprindelsen og den genetiske sammensætning af HBL-100, hvilket gør den til en problematisk cellelinje for forskning uden grundig validering af dens egenskaber og oprindelse.

Organism Menneske

Tissue Bryst

Disease Karcinom

Synonyms HBL 100, HBL100

Karakteristika

Age 27 år

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation HBL-100 (Cytion katalognummer 300178)

HBL-100-celler | 300178

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Biomolekylære 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, Fænotypefrekvensprodukt: 0.0008

Tumorigenic Yees, i nøgne mus. Ved passageniveauer under 35 er linjen ikke tumorigen i nøgenmus, men danner kolonier i blød agar. Det er blevet rapporteret, at tumorigeniciteten øges over passage 35.

Viruses Cellerne indeholder et tamdemly integreret SV40-genom, og det er blevet rapporteret, at de kan indeholde et type D-retrovirus, der ligner eller er identisk med Mason-Pfizer monkey virus (MPMV).

Reverse transcriptase Positiv

Ploidy status Aneuploid

MSI-status Stabil (MSS)

Karyotype Stammekromosomtallet er næsten triploid med et modalt antal på 67 kromosomer, og 2S-komponenten forekommer med 0,6 %. De fleste kromosomkomplementer består af ca. 39 normale kromosomer og 28 markørkromosomer. Markører som 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt og mange andre er fælles for de fleste metafaser. De normale kromosomer 11, 14, 15 og 16 er fraværende. 2, 12, 17 og 19 er monosomiske, og x er disomisk. DNA-profilering for amelogenin, et kønskromosomspecifikt PCR-assay, der kan skelne mellem x-kromosomspecifikke produkter og Y-kromosomspecifikke produkter, afslørede tilstedeværelsen af Y-kromosomer i denne cellelinje af formodet kvindelig oprindelse. Bekræftelse af de generelle fund blev opnået ved QM-farvning, C-banding og FISH med en hel kromosomfarvesonde til det humane Y-kromosom.

Håndtering

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

HBL-100-celler | 300178

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HBL-100-celler | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HBL-100-celler | 300178

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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