Product sheet

Κύτταρα HBL-100 | 300178

Γενικές πληροφορίες

Description	Το HBL-100 είναι μια ανθρώπινη επιθηλιακή κυτταρική σειρά του μαστού που προέρχεται αρχικά από το μητρικό γάλα μιας θηλάζουσας μητέρας. Το γάλα συλλέχθηκε τρεις ημέρες μετά τον τοκετό, και παρά το γεγονός ότι δεν υπήρχαν ενδείξεις βλάβης του μαστού στη δότρια και δεν υπήρχε οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, τα κύτταρα παρουσίασαν ανώμαλο καρυότυπο κατά το πέρασμα 7. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι αξιοσημείωτη για την ικανότητά της να συνθέτει μικρή ποσότητα λακτόζης και να ανταποκρίνεται στη διέγερση της προλακτίνης ή των οιστρογόνων αυξάνοντας την παραγωγή καζεΐνης. Μικροσκοπικές αναλύσεις, όπως οι ηλεκτρονικές μικρογραφίες, επιβεβαίωσαν την παρουσία μικροβίων, τονοϊνιδίων και δεσμοσωμάτων στα κύτταρα αυτά, αναδεικνύοντας τα τυπικά επιθηλιακά χαρακτηριστικά τους. Ωστόσο, η κυτταρική σειρά HBL-100 έχει αντιμετωπίσει σημαντικές επιπλοκές όσον αφορά την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό της. Διαπιστώθηκε ότι περιέχει χρωμόσωμα Y, γεγονός που υποδηλώνει εσφαλμένη ταυτοποίηση, καθώς η κυτταρική σειρά θεωρήθηκε αρχικά ότι είναι γυναικείας προέλευσης. Περαιτέρω πολυπλοκότητα προκύπτει από την παρουσία γονιδιωματικών αλληλουχιών SV40 εντός της κυτταρικής σειράς, γεγονός που αντικρούει τις προηγούμενες πεποιθήσεις ότι ήταν αυθόρμητα αθάνατη. Τα ευρήματα αυτά έχουν οδηγήσει σε συζητήσεις σχετικά με την προέλευση και τη γενετική σύνθεση της HBL-100, καθιστώντας την προβληματική κυτταρική σειρά για την έρευνα χωρίς ενδελεχή επικύρωση των χαρακτηριστικών και της προέλευσής της.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Στήθος
Disease	Καρκίνωμα
Synonyms	HBL 100, HBL100

Χαρακτηριστικά

Age	27 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα HBL-100 | 300178

Citation	HBL-100 (αριθμός καταλόγου Cytion 300178)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4362

Βιομοριακά δεδομένα

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, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπου: 0.0008
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια. Σε επίπεδα διέλευσης κάτω του 35 η γραμμή δεν είναι καρκινική σε γυμνά ποντίκια, αλλά σχηματίζει αποικίες σε μαλακό άγαρ. Έχει αναφερθεί ότι η καρκινικότητα αυξάνεται πάνω από το πέρασμα 35.
Viruses	Τα κύτταρα περιέχουν ένα ολοκληρωμένο γονιδίωμα SV40 έχει αναφερθεί ότι μπορεί να περιέχουν έναν ρετροϊό τύπου D που είναι παρόμοιος ή πανομοιότυπος με τον ιό των πιθήκων Mason-Pfizer (MPMV).
Reverse transcriptase	Θετικό
Ploidy status	Ανευπλοειδές
MSI-status	Σταθερό (MSS)
Karyotype	Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων της βλαστικής γραμμής είναι σχεδόν τριπλοειδής με τον μέσο αριθμό των 67 χρωμοσωμάτων και το συστατικό 2S εμφανίζεται σε ποσοστό 0,6%. Τα περισσότερα συμπληρώματα χρωμοσωμάτων αποτελούνται από περίπου 39 φυσιολογικά και 28 χρωμοσώματα-δείκτες. Δείκτες όπως 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q;), t(6p;.16), 16pt και πολλοί άλλοι είναι κοινοί στις περισσότερες μεταφάσεις. Τα φυσιολογικά χρωμοσώματα 11, 14, 15 και 16 απουσιάζουν. τα 2, 12, 17 και 19 είναι μονοσωμικά και το x είναι δισωμικό. Ο προσδιορισμός του προφίλ DNA για την αμελογενίνη, μια ειδική για το χρωμόσωμα του φύλου δοκιμασία PCR που μπορεί να διακρίνει τα ειδικά για το χρωμόσωμα x προϊόντα από τα ειδικά για το χρωμόσωμα Y, αποκάλυψε την παρουσία χρωμοσωμάτων Y σε αυτή την κυτταρική σειρά υποθετικής γυναικείας προέλευσης. Η επιβεβαίωση των γενικών ευρημάτων επιτεύχθηκε με χρώση QM, C-banding και FISH, με ανιχνευτή χρώματος ολόκληρου χρωμοσώματος στο ανθρώπινο χρωμόσωμα Y.

Χειρισμός

Κύτταρα HBL-100 | 300178

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HBL-100 | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HBL-100 | 300178

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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