

HBL-100 rakud | 300178

Üldine teave

Description

HBL-100 on inimese rinnaepiteeli rakuliin, mis on algselt saadud imetava ema rinnapiimast. Piim koguti kolm päeva pärast sünnitust ja hoolimata sellest, et doonoril ei olnud mingeid tõendeid rinnanäärme kahjustuste kohta ja et perekonnas ei esinenud rinnavähki, ilmned rakud 7. läbipääsul ebanormaalne karyotüüp. See rakuliin on tähelepanuväärne oma võime poolest sünteesida väike kogus laktoosi ja reageerida prolaktiini või östrogeeni stimulatsioonile kaseiini tootmise suurendamisega. Mikroskoopilised analüüsid, näiteks elektronmikrofotod, on kinnitanud mikrovillide, toonofibrillide ja desmosoomide olemasolu nendes rakkudes, mis rõhutab nende tüüpilisi epiteeliomadusi.

HBL-100 rakuliinil on siiski esinenud olulisi komplikatsioone seoses selle identifitseerimise ja iseloomustamisega. Leiti, et see sisaldab Y-kromosoomi, mis viitab valesi identifitseerimisele, kuna algselt arvati, et rakuliin on naissoost. Täiendav keerukus tuleneb SV40 genoomsete sekvenside esinemisest rakuliinis, mis on vastuolus varasemate arvamustega, et see on spontaanselt immortaliseerunud. Need leiud on viinud aruteludeni HBL-100 päritolu ja geneetilise koostise üle, mis muudab selle rakuliini teadustöök probleematiliseks, kui selle omadusi ja päritolu ei ole põhjalikult valideeritud.

Organism Inimene

Tissue Rind

Disease Kartsinoom

Synonyms HBL 100, HBL100

Omadused

Age 27 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation HBL-100 (Cytioni katalooginumber 300178)

HBL-100 rakud | 300178

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4362**Biomolekulaarsed andmed****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, fenotüübi sageduse toode: 0.0008**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel. Alla 35-ndal läbipääsutasandil ei ole liin alasti hiirtel tumorigeenne, kuid moodustab kolooniaid pehmel agaril. On teatatud, et üle 35. passiivsuse suureneb tumorigeensus.**Viruses** Rakud sisaldavad tandemly integreeritud SV40 genoomi, on teatatud, et nad võivad sisaldada D-tüüpi retroviirust, mis on sarnane või identne Mason-Pfizer'i ahviviirusega (MPMV).**Reverse transcriptase** Positiivne**Ploidy status** Aneuploidne**MSI-status** Stabiilne (MSS)**Karyotype** Tüveline kromosoomide arv on peaaegu triploidne, modaalne kromosoomide arv on 67 ja 2S-komponent esineb 0,6% ulatuses. Enamik kromosoomikomplekte koosneb umbes 39 normaalsest ja 28 markerkromosoomist. Markerid nagu 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt ja paljud teised on enamikul metafaasidest ühised. Normaalsed kromosoomid 11, 14, 15 ja 16 puuduvad. 2, 12, 17 ja 19 on monosoomsed ja x on disoomne. DNA-profiili määramine amelogeniini jaoks, mis on sugukromosoomispetsiifiline PCR-analüüs, mis suudab eristada x-kromosoomi spetsiifilisi tooteid Y-kromosoomi spetsiifilistest toodetest, näitas Y-kromosoomide olemasolu selles oletatavalt naispärilolu rakuliinis. Üldiste leidude kinnitamiseks kasutati QM-värvimist, C-banding'i ja FISH-meetodit, mille puhul kasutati inimese Y-kromosoomi kogu kromosoomi värvi sondi.**Töötlemine****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820200a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

HBL-100 rakud | 300178

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HBL-100 rakud | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HBL-100 rakud | 300178

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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