

HBL-100-solut | 300178

Yleisiä tietoja

Description

HBL-100 on ihmisen rintaepiteelisolulinja, joka on alun perin saatu imettävän äidin rintamaidosta. Maito kerättiin kolme päivää synnytyksen jälkeen, ja vaikka luovuttajalla ei ollut merkkejä rintamuutoksesta eikä suvussa esiintynyt rintasyöpää, solut osoittivat epänormaalia karyotyyppiä läpikäynnin 7 aikana. Tämä solulinja on tunnettu siitä, että se pystyy syntetisoimaan pienen määrän laktoosia ja reagoimaan prolaktiinin tai estrogeenin stimulaatioon lisäämällä kaseiinin tuotantoa. Mikroskooppiset analyysit, kuten elektronimikroskooppikuvaukset, ovat vahvistaneet mikrovillien, tonofibrillien ja desmosomien esiintymisen näissä soluissa, mikä korostaa niiden tyypillisiä epiteeliominaisuuksia.

HBL-100-solulinjalla on kuitenkin ollut huomattavia vaikeuksia sen tunnistamisessa ja karakterisoinnissa. Sen todettiin sisältävän Y-kromosomin, mikä viittaa virheelliseen tunnistukseen, sillä solulinjan luultiin alun perin olevan naisperäinen. Lisäkompleksisuutta aiheuttaa SV40-genomisekvenssien esiintyminen solulinjassa, mikä on ristiriidassa aikaisempien käsitysten kanssa, joiden mukaan solulinja oli spontaanisti kuolematon. Nämä havainnot ovat johtaneet keskusteluihin HBL-100:n alkuperästä ja geneettisestä koostumuksesta, mikä tekee siitä ongelmallisen solulinjan tutkimukseen ilman sen ominaisuuksien ja alkuperän perusteellista validointia.

Organism Ihminen

Tissue Rinta

Disease Syöpä

Synonyms HBL 100, HBL100

Ominaisuudet

Age 27 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation HBL-100 (Cytionin luettelonumero 300178)

HBL-100-solut | 300178

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Biomolekyylitiedot

Antigen expression HLA A1, A10, A11, B7 JA B8

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, ES-D, 1, Me-2, 0, GLO-1, 2, AK-1, 1-2, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0008

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä. Alle 35:n läpivientitasoilla linja ei ole nude-hiirissä tumorigeeninen, mutta se muodostaa pesäkkeitä pehmeässä agarissa. Tumorigeenisyyden on raportoitu lisääntyvän yli 35. läpiviennin jälkeen.

Viruses Solut sisältävät tandemly-integroituneen SV40-genomin, ja on raportoitu, että ne saattavat sisältää D-tyypin retrovirusta, joka on samanlainen tai identtinen Mason-Pfizer-apinaviruksen (MPMV) kanssa.

Reverse transcriptase Positiivinen

Ploidy status Aneuploidinen

MSI-status Vakaa (MSS)

Karyotype Kromosomiluku on lähes triploidi, modaaliluku on 67 kromosomia, ja 2S-komponenttia esiintyy 0,6 prosenttia. Useimmat kromosomikomplementit koostuvat noin 39 normaalista ja 28 merkkikromosomista. Markkereita, kuten 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt ja monet muut ovat yleisiä useimmissa metafaaseissa. Normaalit kromosomit 11, 14, 15 ja 16 puuttuvat. kromosomit 2, 12, 17 ja 19 ovat monosomisia, ja x on disominen. DNA-profilointi amelogeniinille, joka on sukupuolikromosomispesifinen PCR-määrittäjä, jolla voidaan erottaa x-kromosomispesifiset tuotteet Y-kromosomispesifisistä tuotteista, paljasti Y-kromosomien esiintymisen tässä oletettavasti naisperäisessä solulinjassa. Yleiset löydökset vahvistettiin QM-värjäyksellä, C-banding-menetelmällä ja FISH-menetelmällä, jossa käytettiin ihmisen Y-kromosomiin kohdistuvaa koko kromosomin maalauskoetinta.

Käsittely

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820200a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

HBL-100-solut | 300178

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HBL-100-solut | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HBL-100-solut | 300178

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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