

Cellules HBL-100 | 300178

Informations générales

Description

HBL-100 est une lignée de cellules épithéliales mammaires humaines dérivées à l'origine du lait maternel d'une femme qui allaitait. Le lait a été prélevé trois jours après l'accouchement et, malgré l'absence de lésion mammaire chez la donneuse et d'antécédents familiaux de cancer du sein, les cellules présentaient un caryotype anormal au passage 7. Cette lignée cellulaire est remarquable pour sa capacité à synthétiser une petite quantité de lactose et à répondre à la stimulation par la prolactine ou les œstrogènes en augmentant la production de caséine. Les analyses microscopiques, telles que les micrographies électroniques, ont confirmé la présence de microvillosités, de tonofibrilles et de desmosomes dans ces cellules, soulignant leurs caractéristiques épithéliales typiques.

Cependant, la lignée cellulaire HBL-100 a rencontré d'importantes complications en ce qui concerne son identification et sa caractérisation. On a découvert qu'elle contenait un chromosome Y, ce qui suggère une erreur d'identification, car on pensait initialement que la lignée cellulaire était d'origine féminine. La présence de séquences génomiques de SV40 dans la lignée cellulaire, contredisant les croyances antérieures selon lesquelles la lignée était spontanément immortalisée, a rendu les choses encore plus complexes. Ces résultats ont conduit à des débats sur l'origine et la composition génétique de HBL-100, ce qui en fait une lignée cellulaire problématique pour la recherche en l'absence d'une validation approfondie de ses caractéristiques et de son origine.

Organism Humain

Tissue Sein

Disease Carcinome

Synonyms HBL 100, HBL100

Caractéristiques

Age 27 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Morphology De type épithélial

Growth properties Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Cellules HBL-100 | 300178

Citation	HBL-100 (numéro de catalogue Cytion 300178)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4362

Données biomoléculaires

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, Fréquence du phénotype Produit : 0.0008
Tumorigenic	Oui, chez la souris nue. À des niveaux de passage inférieurs à 35, la lignée n'est pas tumorigène chez la souris nue, mais forme des colonies dans la gélose molle. Il a été rapporté que la tumorigénicité augmentait au-delà du passage 35.
Viruses	Les cellules contiennent un génome SV40 tamdemly intégré. Il a été rapporté qu'elles pourraient contenir un rétrovirus de type D similaire ou identique au virus du singe Mason-Pfizer (MPMV).
Reverse transcriptase	Positif
Ploidy status	Aneuploïde
MSI-status	Stable (MSS)
Karyotype	Le nombre de chromosomes de la ligne de base est presque triploïde, avec un nombre modal de 67 chromosomes, et la composante 2S est présente à 0,6 %. La plupart des compléments chromosomiques sont constitués d'environ 39 chromosomes normaux et 28 chromosomes marqueurs. Les marqueurs tels que 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q ?), t(6p ?.16), 16pt et bien d'autres sont communs à la plupart des métaphases. Les chromosomes normaux 11, 14, 15 et 16 sont absents. les chromosomes 2, 12, 17 et 19 sont monosomiques et le x est disomique. Le profilage de l'ADN pour l'amélogénine, un test PCR spécifique du chromosome sexuel qui peut distinguer les produits spécifiques du chromosome X des produits spécifiques du chromosome Y, a révélé la présence de chromosomes Y dans cette lignée cellulaire d'origine féminine présumée. Les résultats généraux ont été confirmés par la coloration QM, le marquage C et la FISH, avec une sonde de peinture de chromosome entier sur le chromosome Y humain.

Manipulation

Cellules HBL-100 | 300178

Culture Medium McCoy's 5a, w : 3.0 g/L Glucose, w : Glutamine stable, w : 2.0 mM Pyruvate de sodium, w : 2.2 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820200a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:2 est recommandé

Seeding density 1×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules HBL-100 | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HBL-100 | 300178

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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

Allèles 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