

HBL-100 sejtek | 300178

Általános információk

Description

A HBL-100 egy humán emlőhámsejtvonal, amely eredetileg szoptató anyák anyatejéből származik. A tejet három nappal a szülés után gyűjtötték, és annak ellenére, hogy a donorban nem volt emlőelváltozásra utaló jel, és a családban nem volt emlőrák, a sejtek a 7. passzázsra abnormális kariotípust mutattak. Ez a sejtvonal figyelemre méltóan képes kis mennyiségű laktózt szintetizálni, és a prolaktin vagy ösztrogén stimulációra a kazein termelésének növelésével reagálni. Mikroszkópos elemzések, például elektronmikroszkópos felvételek, megerősítették a mikrovillák, tonofibrillumok és deszmoszómák jelenlétét ezekben a sejtekben, kiemelve tipikus epiteliális jellemzőiket.

A HBL-100 sejtvonal azonosítása és jellemzése azonban jelentős komplikációkba ütközött. Kiderült, hogy Y kromoszómát tartalmaz, ami téves azonosításra utal, mivel a sejtvonalat eredetileg női eredetűnek gondolták. További bonyolultságot okoz az SV40 genomiális szekvenciák jelenléte a sejtvonalon belül, ami ellentmond a korábbi vélekedéseknek, miszerint spontán immortalizálódott. Ezek a megállapítások vitákhoz vezettek a HBL-100 eredetével és genetikai felépítésével kapcsolatban, ami problematikus sejtvonallá teszi azt a kutatás számára, ha jellemzőinek és eredetének alapos validálása nélkül.

Organism Emberi

Tissue Mell

Disease Karcinóma

Synonyms HBL 100, HBL100

Jellemzők

Age 27 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Epithelszerű

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation HBL-100 (Cytion katalógusszám: 300178)

HBL-100 sejtek | 300178

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Biomolekuláris adatok

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, Fenotípus gyakorisági termék: 0.0008

Tumorigenic Igen, meztelen egereken. A 35 alatti passzázsszinteknél a vonal nem tumorigén meztelen egerekben, de lágy agarban kolóniákat képez. A jelentések szerint a tumorigenitás 35-ös passzázs felett fokozódik.

Viruses A sejtek tandemly integrált SV40 genomot tartalmaznak, és arról számoltak be, hogy tartalmazhatnak egy D típusú retrovírust, amely hasonló vagy azonos a Mason-Pfizer majomvírussal (MPMV).

Reverse transcriptase Pozitív

Ploidy status Aneuploid

MSI-status Stabil (MSS)

Karyotype A törzsvonal kromoszómaszáma közel triploid, 67 kromoszómával, és a 2S komponens 0,6%-ban fordul elő. A legtöbb kromoszómakomplement körülbelül 39 normál és 28 marker kromoszómából áll. Az olyan markerek, mint a 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt és sok más, a legtöbb metafázisban gyakoriak. A normális 11, 14, 15 és 16 kromoszómák hiányoznak. a 2, 12, 17 és 19 monoszómás, az x pedig diszómás. Az amelogenin DNS-profilozása, egy nemi kromoszóma-specifikus PCR-teszt, amely képes megkülönböztetni az x-kromoszóma-specifikus termékeket az Y-kromoszóma-specifikus termékektől, kimutatta az Y-kromoszómák jelenlétét ebben a feltételezett női eredetű sejtvonalban. Az általános leletek megerősítése QM festéssel, C-bandinggal és FISH-vel történt, a humán Y kromoszómához tartozó teljes kromoszóma festékszondával.

A kezelése

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám: 820200a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

HBL-100 sejtek | 300178**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 1×10^4 sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HBL-100 sejtek | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HBL-100 sejtek | 300178

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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