

Cellule HBL-100 | 300178

Informazioni generali

Description

HBL-100 è una linea cellulare epiteliale mammaria umana originariamente derivata dal latte materno di una madre che allattava. Il latte è stato raccolto tre giorni dopo il parto e, nonostante la donatrice non presentasse alcuna lesione mammaria e non avesse una storia familiare di cancro al seno, al passaggio 7 le cellule presentavano un cariotipo anomalo. Questa linea cellulare si distingue per la capacità di sintetizzare una piccola quantità di lattosio e di rispondere alla stimolazione della prolattina o degli estrogeni aumentando la produzione di caseina. Le analisi microscopiche, come le micrografie elettroniche, hanno confermato la presenza di microvilli, tonofibrille e desmosomi in queste cellule, evidenziandone le tipiche caratteristiche epiteliali.

Tuttavia, la linea cellulare HBL-100 ha incontrato notevoli complicazioni per quanto riguarda la sua identificazione e caratterizzazione. Si è scoperto che contiene un cromosoma Y, il che suggerisce un'errata identificazione, dato che inizialmente si pensava che la linea cellulare fosse di origine femminile. Un'ulteriore complessità deriva dalla presenza di sequenze genomiche SV40 all'interno della linea cellulare, contraddicendo le precedenti convinzioni che fosse immortalizzata spontaneamente. Questi risultati hanno portato a dibattiti sull'origine e sulla composizione genetica di HBL-100, rendendola una linea cellulare problematica per la ricerca senza un'approfondita convalida delle sue caratteristiche e della sua origine.

Organism Umano

Tissue Seno

Disease Carcinoma

Synonyms HBL 100, HBL100

Caratteristiche

Age 27 anni

Gender Donna

Ethnicity Caucasico

Morphology Simile all'epitelio

Growth properties Monostrato, aderente

Dati normativi

Cellule HBL-100 | 300178

Citation HBL-100 (numero di catalogo Cytion 300178)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Dati biomolecolari

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, Prodotto di frequenza del fenotipo: 0.0008

Tumorigenic Sì, in topi nudi. A livelli di passaggio inferiori a 35, la linea non è tumorigenica in topi nudi, ma forma colonie in soft agar. È stato segnalato un aumento della tumorigenicità al di sopra del 35° passaggio.

Viruses Le cellule contengono un genoma SV40 integrato tandemicamente ed è stato segnalato che possono contenere un retrovirus di tipo D simile o identico al Mason-Pfizer monkey virus (MPMV).

Reverse transcriptase Positivo

Ploidy status Aneuploide

MSI-status Stabile (MSS)

Karyotype Il numero di cromosomi della linea staminale è quasi triploide, con un numero modale di 67 cromosomi e una componente 2S dello 0,6%. La maggior parte dei complementi cromosomici è costituita da circa 39 cromosomi normali e 28 cromosomi marcatori. Marcatori come 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt e molti altri sono comuni alla maggior parte delle metafasi. I cromosomi normali 11, 14, 15 e 16 sono assenti. 2, 12, 17 e 19 sono monosomici e l'x è disomico. Il profilo del DNA per l'amelogenina, un test PCR specifico per i cromosomi sessuali in grado di distinguere i prodotti specifici del cromosoma x da quelli del cromosoma Y, ha rivelato la presenza di cromosomi Y in questa linea cellulare di origine putativamente femminile. La conferma dei risultati generali è stata ottenuta mediante colorazione QM, C-banding e FISH, con una sonda a vernice per cromosomi interi sul cromosoma Y umano.

Manipolazione

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutammina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820200a)

Cellule HBL-100 | 300178

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si raccomanda un rapporto di 1:2

Seeding density 1×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HBL-100 | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HBL-100 | 300178

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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