

HBL-100 ląstelės | 300178

Bendra informacija

Description

HBL-100 yra žmogaus krūties epitelio ląstelių linija, iš pradžių gauta iš maitinančios motinos pieno. Pienas buvo surinktas praėjus trimis dienoms po gimdymo, ir, nepaisant to, kad donorė neturėjo jokių krūties pažeidimų ir šeimoje nebuvo krūties vėžio atvejų, ląstelėms buvo nustatytas nenormalus kariotipas iki 7 stadijos. Ši ląstelių linija išsiskiria gebėjimu sintetinti nedidelį kiekį laktozės ir reaguoti į prolaktino ar estrogenų stimuliaciją didinant kazeino gamybą. Mikroskopinės analizės, pavyzdžiui, elektroninės mikrografijos, patvirtino, kad šiose ląstelėse yra mikrovilių, tonofibrilių ir desmosomų, išryškinančių joms būdingas epitelio savybes.

Tačiau HBL-100 ląstelių linija susidūrė su dideliais sunkumais, susijusiais su jos identifikavimu ir apibūdinimu. Nustatyta, kad joje yra Y chromosoma, o tai leidžia manyti, kad ši ląstelių linija buvo klaidingai identifiukuota, nes iš pradžių manyta, kad ji yra moteriškos kilmės. Dar daugiau keblumų kyla dėl to, kad ląstelių linijoje yra SV40 genomo sekų, o tai prieštarauja ankstesniems įsitikinimams, kad ji buvo spontaniškai imortalizuota. Dėl šių išvadų kilo diskusijų dėl HBL-100 kilmės ir genetinės sudėties, todėl, išsamiai nepatvirtinus jos savybių ir kilmės, ji tampa problemiška mokslinių tyrimų ląstelių linija.

Organism Žmogus

Tissue Krūtys

Disease Karcinoma

Synonyms HBL 100, HBL100

Charakteristikos

Age 27 metai

Gender Moteris

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology Į epitelį panašus

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation HBL-100 (Cytion katalogo numeris 300178)

Biosafety level 1

HBL-100 ląstelės | 300178

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Biomolekuliniai duomenys

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, Fenotipo dažnio produktas: 0.0008

Tumorigenic Taip, nuogoms pelėms. Esant mažesniai nei 35 pasažų lygiui, linija nėra navikinė nuogoms pelėms, tačiau minkštame agare sudaro kolonijas. Buvo pranešta, kad navikiškumas didėja, kai yra daugiau nei 35 pasažų.

Viruses Ląstelėse yra tamdemily integruotas SV40 genomus, pranešta, kad jose gali būti D tipo retrovirusas, panašus arba identiškas Mason-Pfizer beždžionių virusui (MPMV).

Reverse transcriptase Teigiamas

Ploidy status Aneuploidinis

MSI-status Stabilus (MSS)

Karyotype Kamieninių chromosomų skaičius yra artimas triploidiniam, o modalinis chromosomų skaičius yra 67 chromosomos, 2S komponentas sudaro 0,6 %. Daugumą chromosomų komplektų sudaro maždaug 39 normalios ir 28 žyminės chromosomos. Daugumai metafazių būdingi tokie žymenys kaip 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt ir daugelis kitų. Normalių 11, 14, 15 ir 16 chromosomų nėra. 2, 12, 17 ir 19 yra monosominės, o x yra disominė. DNR profilio nustatymas amelogeninui, lytinėms chromosomoms specifiniam PGR tyrimui, kuriuo galima atskirti x chromosomai būdingus produktus nuo Y chromosomai būdingų produktų, atskleidė, kad šioje spėjamos moteriškos kilmės ląstelių linijoje yra Y chromosomų. Bendrieji duomenys buvo patvirtinti QM dažymu, C-banding ir FISH, naudojant visos chromosomos dažų zondą su žmogaus Y chromosoma.

Tvarkymas

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820200a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

HBL-100 ląstelės | 300178

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HBL-100 ląstelės | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HBL-100 ląstelės | 300178

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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