

HBL-100 šūnas | 300178

Vispārīga informācija

Description

HBL-100 ir cilvēka krūts epitēlija šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no barojošas mātes piena. Piens tika ievākts trīs dienas pēc dzemdībām, un, lai gan donorei nebija nekādu krūts bojājumu un ģimenē nebija krūts vēža gadījumu, šūnām līdz 7. pārejai bija patoloģisks kariotips. Šī šūnu līnija izceļas ar spēju sintezēt nelielu daudzumu laktozes un reaģēt uz prolaktīna vai estrogēnu stimulāciju, palielinot kazeīna ražošanu. Mikroskopiskās analīzes, piemēram, elektronmikrogrāfijas, ir apstiprinājušas mikroviļu, tonofibrilu un desmosomu klātbūtni šūnās, uzsverot tām raksturīgās epitēlija īpašības.

Tomēr HBL-100 šūnu līnija ir saskārusies ar ievērojamiem sarežģījumiem attiecībā uz tās identifikāciju un raksturojumu. Tika konstatēts, ka tā satur Y hromosomu, kas liecina par kļūdainu identifikāciju, jo sākotnēji tika uzskatīts, ka šūnu līnija ir sieviešu izcelsmes. Papildu sarežģījumus rada SV40 genoma sekvenču klātbūtne šūnu līnijā, kas ir pretrunā ar agrākajiem uzskatiem, ka tā ir spontāni imortalizēta. Šie atklājumi ir izraisījuši diskusijas par HBL-100 izcelsmi un ģenētisko sastāvu, padarot to par problemātisku šūnu līniju pētījumiem, ja nav veikta rūpīga tās īpašību un izcelsmes apstiprināšana.

Organism Cilvēks

Tissue Krūtis

Disease Karcinoma

Synonyms HBL 100, HBL100

Raksturojums

Age 27 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation HBL-100 (Cytion kataloga numurs 300178)

Biosafety level 1

HBL-100 šūnas | 300178

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Biomolekulārie dati

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, Fenotipu biežuma produkts: 0.0008

Tumorigenic Jā, kailām pelēm. Ja pasāžas līmenis ir zemāks par 35, līnija nav tumorogēna nude pelēm, bet veido kolonijas mīkstajā agārā. Ir ziņots, ka audzēja aktivitāte palielinās virs 35. pasāžas.

Viruses Šūnās ir tamdēļ integrēts SV40 genoms, ir ziņots, ka tajās var būt D tipa retrovīruss, kas ir līdzīgs vai identisks Mason-Pfizer pērtiķu vīrusam (MPMV).

Reverse transcriptase Pozitīvs

Ploidy status Aneuploīds

MSI-status Stabils (MSS)

Karyotype Cilmes līnijas hromosomu skaits ir tuvu triploīdam ar 67 hromosomām, un 2S komponents sastopams 0,6 % apmērā. Lielākā daļa hromosomu komplektu sastāv no aptuveni 39 normālām un 28 marķieru hromosomām. Tādi marķieri kā 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt un daudzi citi ir raksturīgi vairumam metafāžu. Nav normālu 11., 14., 15. un 16. hromosomas. 2, 12, 17 un 19 ir monosomiskas, un x ir disomiska. DNS profilēšana amelogenīna noteikšanai, kas ir dzimumhromosomām specifisks PCR tests, ar kuru var atšķirt x hromosomai specifiskus produktus no Y hromosomai specifiskiem produktiem, atklāja Y hromosomu klātbūtni šajā iespējami sieviešu izcelsmes šūnu līnijā. Vispārējos rezultātus apstiprināja ar QM krāsošanu, C-bandingu un FISH, izmantojot cilvēka Y hromosomas krāsu zondi ar visu hromosomu.

Darbs ar

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

HBL-100 šūnas | 300178

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HBL-100 šūnas | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HBL-100 šūnas | 300178

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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