

Células HBL-100 | 300178**Informações gerais****Description**

A HBL-100 é uma linha de células epiteliais da mama humana originalmente derivada do leite materno de uma mãe lactante. O leite foi recolhido três dias após o parto e, apesar de não haver indícios de lesões mamárias na dadora nem história familiar de cancro da mama, as células apresentavam um cariótipo anormal na passagem 7. Esta linha celular é notável pela sua capacidade de sintetizar uma pequena quantidade de lactose e de responder à estimulação com prolactina ou estrogénio, aumentando a produção de caseína. Análises microscópicas, como as micrografias electrónicas, confirmaram a presença de microvilosidades, tonofibrilas e desmossomas nestas células, realçando as suas características epiteliais típicas.

No entanto, a linha celular HBL-100 deparou-se com complicações significativas relativamente à sua identificação e caracterização. Verificou-se que contém um cromossoma Y, o que sugere uma identificação incorrecta, uma vez que se pensava inicialmente que a linha celular era de origem feminina. Uma complexidade adicional resulta da presença de sequências genómicas de SV40 na linha celular, o que contradiz as crenças anteriores de que era espontaneamente imortalizada. Estas descobertas conduziram a debates sobre a origem e a composição genética da HBL-100, tornando-a uma linha celular problemática para a investigação sem uma validação exaustiva das suas características e origem.

Organism Humano**Tissue** Peito**Disease** Carcinoma**Synonyms** HBL 100, HBL100**Caraterísticas****Age** 27 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** HBL-100 (número de catálogo Cytion 300178)

Células HBL-100 | 300178

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Dados biomoleculares

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, Produto de frequência fenotípica: 0.0008

Tumorigenic Sim, em ratinhos nus. Em níveis de passagem inferiores a 35, a linha não é tumorigénica em ratinhos nus, mas forma colónias em ágar macio. Foi registado um aumento da tumorigenicidade acima da passagem 35.

Viruses As células contêm um genoma SV40 tandemly integrado, tendo sido referido que podem conter um retrovírus de tipo D que é semelhante ou idêntico ao vírus de macaco Mason-Pfizer (MPMV).

Reverse transcriptase Positivo

Ploidy status Aneuploide

MSI-status Estável (MSS)

Karyotype O número de cromossomas da linha-tronco é quase triploide, com o número modal de 67 cromossomas, e o componente 2S ocorre em 0,6%. A maioria dos complementos cromossómicos é constituída por cerca de 39 cromossomas normais e 28 cromossomas marcadores. Marcadores como 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt e muitos outros são comuns à maioria das metáfases. Os cromossomas normais 11, 14, 15 e 16 estão ausentes. Os cromossomas 2, 12, 17 e 19 são monossómicos e o x é dissómico. O perfil de ADN para a amelogenina, um ensaio de PCR específico para os cromossomas sexuais que pode distinguir os produtos específicos do cromossoma X dos produtos específicos do cromossoma Y, revelou a presença de cromossomas Y nesta linha celular de origem feminina putativa. A confirmação dos resultados gerais foi efectuada por coloração QM, bandeamento C e FISH, com uma sonda de pintura cromossómica completa para o cromossoma Y humano.

Manuseamento

Culture Medium McCoy's 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820200a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Células HBL-100 | 300178

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HBL-100 | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HBL-100 | 300178

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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