

Celule HBL-100 | 300178

Informații generale

Description

HBL-100 este o linie celulară epitelială mamară umană derivată inițial din laptele matern al unei mame care alăptează. Laptele a fost colectat la trei zile după naștere și, în ciuda faptului că donatoarea nu prezenta nicio leziune mamară și nu avea antecedente familiale de cancer mamar, celulele au prezentat un cariotip anormal până la pasajul 7. Această linie celulară se remarcă prin capacitatea sa de a sintetiza o cantitate mică de lactoză și de a răspunde la stimularea cu prolactină sau estrogen prin creșterea producției de cazeină. Analizele microscopice, cum ar fi micrografiile electronice, au confirmat prezența microvililor, tonofibrilelor și desmosomilor în aceste celule, evidențiind caracteristicile epiteliale tipice.

Cu toate acestea, linia celulară HBL-100 a întâmpinat complicații semnificative în ceea ce privește identificarea și caracterizarea sa. S-a constatat că aceasta conține un cromozom Y, ceea ce sugerează o identificare eronată, deoarece linia celulară a fost considerată inițial de origine feminină. O complexitate suplimentară rezultă din prezența secvențelor genomice SV40 în cadrul liniei celulare, contrazicând convingerile anterioare conform cărora aceasta a fost imortalizată spontan. Aceste constatări au condus la dezbateri cu privire la originea și compoziția genetică a HBL-100, făcând din aceasta o linie celulară problematică pentru cercetare fără o validare completă a caracteristicilor și originii sale.

Organism Om

Tissue Sân

Disease Carcinom

Synonyms HBL 100, HBL100

Caracteristici

Age 27 de ani

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

Morphology De tip epitelial

Growth properties Monostrat, aderent

Date de reglementare

Citation HBL-100 (număr de catalog Cytion 300178)

Celule HBL-100 | 300178

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Date biomoleculare

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, Produs cu frecvența fenotipului: 0.0008

Tumorigenic Da, la șoarecii nude. La niveluri de trecere sub 35, linia nu este tumorigenă la șoarecii nude, dar formează colonii în agar moale. Tumorigenitatea a fost raportată ca crescând peste pasajul 35.

Viruses Celulele conțin un genom SV40 integrat tandemly, s-a raportat că acestea pot conține un retrovirus de tip D care este similar sau identic cu virusul maimuței Mason-Pfizer (MPMV).

Reverse transcriptase Pozitiv

Ploidy status Aneuploid

MSI-status Stabilă (MSS)

Karyotype Numărul cromozomilor este aproape triploid, cu un număr modal de 67 de cromozomi, iar componenta 2S apare la 0,6%. Majoritatea complementelor cromozomiale constau în aproximativ 39 de cromozomi normali și 28 de cromozomi markeri. Markerii precum 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt și mulți alții sunt comuni în majoritatea metafazelor. Cromozomii normali 11, 14, 15 și 16 sunt absenți. 2, 12, 17 și 19 sunt monosomici, iar x este disomic. Profilul ADN pentru amelogenină, un test PCR specific cromozomului sexual care poate distinge produsele specifice cromozomului x de produsele specifice cromozomului Y, a evidențiat prezența cromozomilor Y în această linie celulară de origine presupus feminină. Confirmarea constatărilor generale a fost realizată prin colorație QM, C-banding și FISH, cu o sondă de vopsire a cromozomului întreg pentru cromozomul Y uman.

Manipulare

Culture Medium McCoy's 5a, cu: 3,0 g/L glucoză, cu: glutamină stabilă, cu: 2,0 mM piruvat de sodiu, cu: 2,2 g/L NaHCO₃ (numărul articolului Cytion 820200a)

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS

Celule HBL-100 | 300178**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 1×10^4 celule/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Post-Thaw Recovery** După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HBL-100 | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HBL-100 | 300178

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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