

Bunky HBL-100 | 300178**Všeobecné informácie****Description**

HBL-100 je ľudská epitelová bunková línia prsníka pôvodne získaná z materského mlieka dojčiacej matky. Mlieko bolo odobraté tri dni po pôrode a napriek tomu, že u darkyne sa nevyskytlo žiadne poškodenie prsníka a v rodine sa nevyskytla rakovina prsníka, bunky vykazovali abnormálny karyotyp v 7. štádiu. Táto bunková línia sa vyznačuje schopnosťou syntetizovať malé množstvo laktózy a reagovať na stimuláciu prolaktínom alebo estrogénom zvýšením produkcie kazeínu. Mikroskopické analýzy, ako napríklad elektrónové mikrofotografie, potvrdili prítomnosť mikroklkov, tonofibríl a desmozómov v týchto bunkách, čo zvyrazňuje ich typické epitelové vlastnosti.

Bunková línia HBL-100 sa však stretla so značnými komplikáciami, pokiaľ ide o jej identifikáciu a charakterizáciu. Zistilo sa, že obsahuje chromozóm Y, čo naznačuje nesprávnu identifikáciu, keďže sa pôvodne predpokladalo, že ide o bunkovú líniu ženského pôvodu. Ďalšie komplikácie vyplývajú z prítomnosti genomických sekvencií SV40 v bunkovej línii, čo je v rozpore s predchádzajúcimi názormi, že bola spontánne immortalizovaná. Tieto zistenia viedli k diskusiám o pôvode a genetickom zložení HBL-100, čo z nej robí problematickú bunkovú líniu pre výskum bez dôkladného overenia jej vlastností a pôvodu.

Organism Ľudské**Tissue** Prsia**Disease** Karcinóm**Synonyms** HBL 100, HBL100**Charakteristika****Age** 27 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** HBL-100 (katalógové číslo Cytion 300178)

Bunky HBL-100 | 300178**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4362**Biomolekulárne údaje****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, produkt frekvencie fenotypov: 0.0008**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach. Pri pasáži nižšej ako 35 nie je línia nádorová u nahých myší, ale vytvára kolónie v mäkkom agare. Uvádza sa, že nad pasážou 35 sa nádorovosť zvyšuje.**Viruses** Bunky obsahujú tandemly integrovaný genóm SV40, pričom sa uvádza, že môžu obsahovať retrovírus typu D, ktorý je podobný alebo identický s Mason-Pfizerovým opičím vírusom (MPMV).**Reverse transcriptase** Pozitívne**Ploidy status** Aneuploidné**MSI-status** Stabilný (MSS)**Karyotype** Počet kmeňových chromozómov je takmer triploidný s modálnym počtom 67 chromozómov a zložka 2S sa vyskytuje na úrovni 0,6 %. Väčšina chromozómových kompletov pozostáva z približne 39 normálnych a 28 markerových chromozómov. Markery ako 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt a mnohé ďalšie sú spoločné pre väčšinu metafáz. Normálne chromozómy 11, 14, 15 a 16 chýbajú. 2, 12, 17 a 19 sú monosomické a x je disomický. Profilovanie DNA na amelogenín, PCR test špecifický pre pohlavné chromozómy, ktorý dokáže rozlíšiť produkty špecifické pre chromozóm x od produktov špecifických pre chromozóm Y, odhalilo prítomnosť chromozómu Y v tejto bunkovej línii predpokladaného ženského pôvodu. Potvrdenie všeobecných nálezov sa dosiahlo farbením QM, C-bandingom a FISH s celochromozómovou farbiacou sondou na ľudský chromozóm Y.**Spracovanie****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS

Bunky HBL-100 | 300178

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1×10^4 buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HBL-100 | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HBL-100 | 300178

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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