

HBL-100 celice | 300178

Splošne informacije

Description

HBL-100 je človeška epitelijska celična linija dojke, ki je bila prvotno pridobljena iz materinega mleka doječe matere. Mleko je bilo zbrano tri dni po porodu in kljub temu, da pri darovalki ni bilo dokazov o spremembi dojke in da v družinski anamnezi ni bilo raka dojke, so celice do 7. stadija pokazale nenormalen kariotip. Ta celična linija se odlikuje po tem, da je sposobna sintetizirati majhno količino laktoze in se na prolaktinsko ali estrogensko stimulacijo odzvati s povečano proizvodnjo kazeina. Mikroskopske analize, kot so elektronske mikrofografije, so potrdile prisotnost mikrovilov, tonofibril in desmosomov v teh celicah, kar poudarja njihove tipične epitelijske značilnosti.

Vendar se je celična linija HBL-100 soočila s precejšnjimi zapleti v zvezi z njeno identifikacijo in karakterizacijo. Ugotovljeno je bilo, da vsebuje kromosom Y, kar kaže na napačno identifikacijo, saj so sprva mislili, da je celična linija ženskega izvora. Dodatna zapletenost izhaja iz prisotnosti genomskih zaporedij SV40 v celični liniji, kar nasprotuje prejšnjim prepričanjem, da je bila spontano immortalizirana. Te ugotovitve so privedle do razprav o izvoru in genetski sestavi HBL-100, zaradi česar je ta celična linija problematična za raziskave brez temeljite potrditve njenih značilnosti in izvora.

Organism Človek

Tissue Prsi

Disease Karcinom

Synonyms HBL 100, HBL100

Značilnosti

Age 27 let

Gender Ženske

Ethnicity Kavkaški

Morphology Epitelijam podobni

Growth properties Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation HBL-100 (katalogska številka Cytion 300178)

HBL-100 celice | 300178

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Biomolekularni podatki

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, Fenotip Pogostost izdelka: 0.0008

Tumorigenic Da, na golih miših. Pri stopnjah prehodnosti pod 35 linija ni tumorigena pri golih miših, vendar tvori kolonije v mehkem agarju. Poročali so, da se tumorigenost poveča nad pasažo 35.

Viruses Celice vsebujejo tandemly integriran genom SV40, poročali pa so, da lahko vsebujejo retrovirus tipa D, ki je podoben ali enak virusu opice Mason-Pfizer (MPMV).

Reverse transcriptase Pozitivna

Ploidy status Aneuploidni

MSI-status Stabilno (MSS)

Karyotype Število kromosomov v steblu je skoraj triploidno z modalnim številom 67 kromosomov, komponenta 2S pa se pojavlja v 0,6 %. Večino kromosomov sestavlja približno 39 normalnih in 28 označevalnih kromosomov. Markerji, kot so 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt in številni drugi, so značilni za večino metafaz. Normalni kromosomi 11, 14, 15 in 16 so odsotni. 2, 12, 17 in 19 so monosomični, x pa je disomičen. Profiliranje DNK za amelogenin, test PCR, specifičen za spolne kromosome, ki lahko razlikuje produkte, specifične za kromosom x, od produktov, specifičnih za kromosom Y, je pokazalo prisotnost kromosomov Y v tej celični liniji domnevno ženskega izvora. Splošne ugotovitve so bile potrjene z barvanjem QM, C-bandingom in FISH s sondo za barvanje celotnega kromosoma na človeški kromosom Y.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L glukoze, w: stabilen glutamin, w: 2,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820200a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS

HBL-100 celice | 300178

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataložka številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

HBL-100 celice | 300178

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HBL-100 celice | 300178

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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