

Tế bào HBL-100 | 300178

Thông tin chung

Description

HBL-100 là dòng tế bào biểu mô vú người được phân lập ban đầu từ sữa mẹ của một phụ nữ đang cho con bú. Sữa được thu thập ba ngày sau khi sinh, và mặc dù không có bằng chứng về tổn thương vú ở người hiến tặng và không có tiền sử gia đình mắc ung thư vú, các tế bào đã cho thấy karyotype bất thường ở thể hệ thứ 7. Dòng tế bào này nổi bật với khả năng tổng hợp một lượng nhỏ lactose và phản ứng với kích thích prolactin hoặc estrogen bằng cách tăng sản xuất casein. Các phân tích vi thể, như hình ảnh điện tử, đã xác nhận sự hiện diện của vi lông, tonofibrils và desmosomes trong các tế bào này, nhấn mạnh các đặc điểm biểu mô điển hình của chúng.

Tuy nhiên, dòng tế bào HBL-100 đã gặp phải các vấn đề phức tạp liên quan đến việc xác định và đặc trưng hóa. Nó được phát hiện chứa nhiễm sắc thể Y, cho thấy sự xác định sai vì dòng tế bào ban đầu được cho là có nguồn gốc từ nữ. Sự phức tạp thêm nữa đến từ sự hiện diện của các trình tự gen SV40 trong dòng tế bào, trái ngược với quan niệm trước đây rằng nó được bất tử hóa tự nhiên. Những phát hiện này đã dẫn đến tranh luận về nguồn gốc và thành phần di truyền của HBL-100, khiến nó trở thành một dòng tế bào gây tranh cãi cho nghiên cứu nếu không có sự xác minh kỹ lưỡng về đặc điểm và nguồn gốc của nó.

Organism Con người

Tissue Vú

Disease Ung thư biểu mô

Synonyms HBL 100, HBL100

Đặc điểm

Age 27 năm

Gender Nữ

Ethnicity Người da trắng

Morphology Tương tự biểu mô

Growth properties Lớp đơn, bám dính

Dữ liệu quy định

Citation HBL-100 (Số catalog Cytion 300178)

Biosafety level 1

Tế bào HBL-100 | 300178

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4362

Dữ liệu sinh học phân tử

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, Tần suất kiểu hình: 0,0008

Tumorigenic Đúng vậy, trên chuột nude. Ở mức độ nhân giống dưới 35, dòng tế bào này không gây ung thư trên chuột nude, nhưng có thể hình thành các khối u trong agar mềm. Khả năng gây ung thư đã được báo cáo là tăng lên ở mức độ nhân giống trên 35.

Viruses Các tế bào chứa bộ gen SV40 được tích hợp song song. Đã có báo cáo cho rằng chúng có thể chứa một loại retrovirus loại D tương tự hoặc giống hệt với virus khi Mason-Pfizer (MPMV).

Reverse transcriptase Tích cực

Ploidy status Aneuploid

MSI-status Ổn định (MSS)

Karyotype Số lượng nhiễm sắc thể của dòng tế bào gốc gần với tam bội, với số lượng trung bình là 67 nhiễm sắc thể, và thành phần 2S chiếm 0,6%. Hầu hết các bộ nhiễm sắc thể bao gồm khoảng 39 nhiễm sắc thể bình thường và 28 nhiễm sắc thể đánh dấu. Các nhiễm sắc thể đánh dấu như 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt và nhiều loại khác thường xuất hiện ở hầu hết các giai đoạn metaphase. Các nhiễm sắc thể bình thường 11, 14, 15 và 16 bị thiếu. Các nhiễm sắc thể 2, 12, 17 và 19 là monosomic, và nhiễm sắc thể X là disomic. Phân tích DNA cho amelogenin, một xét nghiệm PCR đặc hiệu cho nhiễm sắc thể giới tính có thể phân biệt các sản phẩm đặc hiệu của nhiễm sắc thể X với các sản phẩm đặc hiệu của nhiễm sắc thể Y, đã cho thấy sự hiện diện của nhiễm sắc thể Y trong dòng tế bào này có nguồn gốc nữ. Việc xác nhận các kết quả chung được thực hiện bằng nhuộm QM, C-banding và FISH, sử dụng probe nhuộm toàn bộ nhiễm sắc thể cho nhiễm sắc thể Y của người.

Xử lý

Culture Medium McCoys 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,0 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)

Supplements Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Tế bào HBL-100 | 300178**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.**Seeding density** 1×10^4 tế bào/cm²**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Post-Thaw Recovery** Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5×10^4 tế bào/cm² và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào HBL-100 | 300178**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HBL-100 | 300178

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Các alen 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