HBL-100 šūnas

300178

HBL-100 ir cilvēka krūts epitēlija šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no barojošas mātes piena. Piens tika ievākts trīs dienas pēc dzemdībām, un, lai gan donorei nebija nekādu krūts bojājumu un ģimenē nebija krūts vēža gadījumu, šūnām līdz 7. pārejai bija patoloģisks kariotips. Šī šūnu līnija izceļas ar spēju sintezēt nelielu daudzumu laktozes un reaģēt uz prolaktīna vai estrogēnu stimulāciju, palielinot kazeīna ražošanu. Mikroskopiskās analīzes, piemēram, elektronmikrogrāfijas, ir apstiprinājušas mikroviļu, tonofibrilu un desmosomu klātbūtni šūnās, uzsverot tām raksturīgās epitēlija īpašības.
Tomēr HBL-100 šūnu līnija ir saskārusies ar ievērojamiem sarežģījumiem attiecībā uz tās identifikāciju un raksturojumu. Tika konstatēts, ka tā satur Y hromosomu, kas liecina par kļūdainu identifikāciju, jo sākotnēji tika uzskatīts, ka šūnu līnija ir sieviešu izcelsmes. Papildu sarežģījumus rada SV40 genoma sekvenču klātbūtne šūnu līnijā, kas ir pretrunā ar agrākajiem uzskatiem, ka tā ir spontāni imortalizēta. Šie atklājumi ir izraisījuši diskusijas par HBL-100 izcelsmi un ģenētisko sastāvu, padarot to par problemātisku šūnu līniju pētījumiem, ja nav veikta rūpīga tās īpašību un izcelsmes apstiprināšana.

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

HBL-100 ir cilvēka krūts epitēlija šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no barojošas mātes piena. Piens tika ievākts trīs dienas pēc dzemdībām, un, lai gan donorei nebija nekādu krūts bojājumu un ģimenē nebija krūts vēža gadījumu, šūnām līdz 7. pārejai bija patoloģisks kariotips. Šī šūnu līnija izceļas ar spēju sintezēt nelielu daudzumu laktozes un reaģēt uz prolaktīna vai estrogēnu stimulāciju, palielinot kazeīna ražošanu. Mikroskopiskās analīzes, piemēram, elektronmikrogrāfijas, ir apstiprinājušas mikroviļu, tonofibrilu un desmosomu klātbūtni šūnās, uzsverot tām raksturīgās epitēlija īpašības.
Tomēr HBL-100 šūnu līnija ir saskārusies ar ievērojamiem sarežģījumiem attiecībā uz tās identifikāciju un raksturojumu. Tika konstatēts, ka tā satur Y hromosomu, kas liecina par kļūdainu identifikāciju, jo sākotnēji tika uzskatīts, ka šūnu līnija ir sieviešu izcelsmes. Papildu sarežģījumus rada SV40 genoma sekvenču klātbūtne šūnu līnijā, kas ir pretrunā ar agrākajiem uzskatiem, ka tā ir spontāni imortalizēta. Šie atklājumi ir izraisījuši diskusijas par HBL-100 izcelsmi un ģenētisko sastāvu, padarot to par problemātisku šūnu līniju pētījumiem, ja nav veikta rūpīga tās īpašību un izcelsmes apstiprināšana.

Audums	Krūtis
Slimība	Karcinoma

Sinonīmi

- HBL 100
- HBL100

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Tumorogēns	Jā, kailām pelēm. Ja pasāžas līmenis ir zemāks par 35, līnija nav tumorogēna nude pelēm, bet veido kolonijas mīkstajā agārā. Ir ziņots, ka audzēja aktivitāte palielinās virs 35. pasāžas.
Ploidijas statuss	Aneuploīds
MSI statuss	Stabils (MSS)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Kariotips

Cilmes līnijas hromosomu skaits ir tuvu triploīdam ar 67 hromosomām, un 2S komponents sastopams 0,6 % apmērā. Lielākā daļa hromosomu komplektu sastāv no aptuveni 39 normālām un 28 marķieru hromosomām. Tādi marķieri kā 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt un daudzi citi ir raksturīgi vairumam metafāžu. Nav normālu 11., 14., 15. un 16. hromosomas. 2, 12, 17 un 19 ir monosomiskas, un x ir disomiska. DNS profilēšana amelogenīna noteikšanai, kas ir dzimumhromosomām specifisks PCR tests, ar kuru var atšķirt x hromosomai specifiskus produktus no Y hromosomai specifiskiem produktiem, atklāja Y hromosomu klātbūtni šajā iespējami sieviešu izcelsmes šūnu līnijā. Vispārējos rezultātus apstiprināja ar QM krāsošanu, C-bandingu un FISH, izmantojot cilvēka Y hromosomas krāsu zondi ar visu hromosomu.

IDENTIFIKATORI

Atsauce

HBL-100 (Cytion kataloga numurs 300178)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_4362

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Antigēna ekspresija

HLA A1, A10, A11, B7, B8

Izoenzīmi

G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, ES-D, 1, Me-2, 0, GLO-1, 2, AK-1, 1-2, Fenotipu biežuma produkts: 0.0008

Vīrusi

Šūnās ir tamdēļ integrēts SV40 genoms, ir ziņots, ka tajās var būt D tipa retrovīruss, kas ir līdzīgs vai identisks Mason-Pfizer pērtiķu vīrusam (MPMV).

Reversā transkriptāze	Pozitīvs

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Sēšanas blīvums	1 x 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā
Atgūšanās pēc atkusņa	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	27 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes