Células HBL-100

300178

A HBL-100 é uma linha de células epiteliais da mama humana originalmente derivada do leite materno de uma mãe lactante. O leite foi recolhido três dias após o parto e, apesar de não haver indícios de lesões mamárias na dadora nem história familiar de cancro da mama, as células apresentavam um cariótipo anormal na passagem 7. Esta linha celular é notável pela sua capacidade de sintetizar uma pequena quantidade de lactose e de responder à estimulação com prolactina ou estrogénio, aumentando a produção de caseína. Análises microscópicas, como as micrografias electrónicas, confirmaram a presença de microvilosidades, tonofibrilas e desmossomas nestas células, realçando as suas caraterísticas epiteliais típicas.
No entanto, a linha celular HBL-100 deparou-se com complicações significativas relativamente à sua identificação e caraterização. Verificou-se que contém um cromossoma Y, o que sugere uma identificação incorrecta, uma vez que se pensava inicialmente que a linha celular era de origem feminina. A complexidade adicional resulta da presença de sequências genómicas de SV40 na linha celular, o que contradiz as crenças anteriores de que se tratava de uma imortalização espontânea. Estas descobertas conduziram a debates sobre a origem e a composição genética da HBL-100, tornando-a uma linha celular problemática para a investigação sem uma validação exaustiva das suas caraterísticas e origem.

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A HBL-100 é uma linha de células epiteliais da mama humana originalmente derivada do leite materno de uma mãe lactante. O leite foi recolhido três dias após o parto e, apesar de não haver indícios de lesões mamárias na dadora nem história familiar de cancro da mama, as células apresentavam um cariótipo anormal na passagem 7. Esta linha celular é notável pela sua capacidade de sintetizar uma pequena quantidade de lactose e de responder à estimulação com prolactina ou estrogénio, aumentando a produção de caseína. Análises microscópicas, como as micrografias electrónicas, confirmaram a presença de microvilosidades, tonofibrilas e desmossomas nestas células, realçando as suas caraterísticas epiteliais típicas.
No entanto, a linha celular HBL-100 deparou-se com complicações significativas relativamente à sua identificação e caraterização. Verificou-se que contém um cromossoma Y, o que sugere uma identificação incorrecta, uma vez que se pensava inicialmente que a linha celular era de origem feminina. A complexidade adicional resulta da presença de sequências genómicas de SV40 na linha celular, o que contradiz as crenças anteriores de que se tratava de uma imortalização espontânea. Estas descobertas conduziram a debates sobre a origem e a composição genética da HBL-100, tornando-a uma linha celular problemática para a investigação sem uma validação exaustiva das suas caraterísticas e origem.

Tecido	Peito
Doença	Carcinoma

Sinónimos

- HBL 100
- HBL100

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	De tipo epitelial

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

Tumorigénico	Sim, em ratinhos nus. Em níveis de passagem inferiores a 35, a linha não é tumorigénica em ratinhos nus, mas forma colónias em ágar macio. Foi registado um aumento da tumorigenicidade acima da passagem 35.
Estado de ploidia	Aneuploide
Estado do MSI	Estável (MSS)

Cariótipo

O número de cromossomas da linha-tronco é quase triploide, com o número modal de 67 cromossomas, e o componente 2S ocorre em 0,6%. A maioria dos complementos cromossómicos é constituída por cerca de 39 cromossomas normais e 28 cromossomas marcadores. Marcadores como 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt e muitos outros são comuns à maioria das metáfases. Os cromossomas normais 11, 14, 15 e 16 estão ausentes. os cromossomas 2, 12, 17 e 19 são monossómicos e o x é dissómico. O perfil de ADN para a amelogenina, um ensaio de PCR específico para os cromossomas sexuais que pode distinguir os produtos específicos do cromossoma X dos produtos específicos do cromossoma Y, revelou a presença de cromossomas Y nesta linha celular de origem feminina putativa. A confirmação dos resultados gerais foi efectuada por coloração QM, bandeamento C e FISH, com uma sonda de pintura cromossómica completa para o cromossoma Y humano.

IDENTIFICADORES

Referência

HBL-100 (número de catálogo Cytion 300178)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_4362

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão do antígeno

HLA A1, A10, A11, B7, B8

Isoenzimas

G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, ES-D, 1, Me-2, 0, GLO-1, 2, AK-1, 1-2, Produto de frequência fenotípica: 0.0008

Vírus

As células contêm um genoma SV40 tamdemly integrado, tendo sido referido que podem conter um retrovírus de tipo D que é semelhante ou idêntico ao vírus de macaco Mason-Pfizer (MPMV).

Transcriptase reversa	Positivo

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

McCoys 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820200a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Densidade de sementeira	1 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana
Recuperação após o descongelamento	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5 x 10^4 células/cm^2 e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	27 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes

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