

## HBL-100 cellen | 300178

## Algemene informatie

## Description

HBL-100 is een menselijke borstepitheelcellijn die oorspronkelijk afkomstig was van de moedermelk van een zogende moeder. De melk werd drie dagen na de bevalling verzameld en ondanks het feit dat de donor geen borstlaesie had en geen familiegeschiedenis van borstkanker, vertoonden de cellen bij passage 7 een abnormaal karyotype. Deze cellijn valt op door zijn vermogen om een kleine hoeveelheid lactose te synthetiseren en te reageren op stimulatie door prolactine of oestrogeen door de productie van caseïne te verhogen. Microscopische analyses, zoals elektronenmicrofoto's, hebben de aanwezigheid van microvilli, tonofibrillen en desmosomen in deze cellen bevestigd, wat hun typische epitheliale kenmerken benadrukt.

De HBL-100 cellijn heeft echter aanzienlijke complicaties ondervonden bij de identificatie en karakterisering. Er werd ontdekt dat de cellijn een Y-chromosoom bevat, wat duidt op een verkeerde identificatie omdat aanvankelijk werd gedacht dat de cellijn van vrouwelijke oorsprong was. Verdere complexiteit komt voort uit de aanwezigheid van SV40-genomische sequenties in de cellijn, wat eerdere opvattingen tegenspreekt dat de cellijn spontaan geïmmortaliseerd was. Deze bevindingen hebben geleid tot discussies over de oorsprong en de genetische samenstelling van HBL-100, waardoor het een problematische cellijn is voor onderzoek zonder grondige validatie van de eigenschappen en oorsprong.

**Organism** Mens

**Tissue** Borst

**Disease** Carcinoom

**Synonyms** HBL 100, HBL100

## Kenmerken

**Age** 27 jaar

**Gender** Vrouw

**Ethnicity** Kaukasisch

**Morphology** Epitheelachtig

**Growth properties** Monolaag, adherent

## Regelgevende gegevens

**Citation** HBL-100 (Cytion catalogusnummer 300178)

**HBL-100 cellen | 300178****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_4362**Biomoleculaire gegevens****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, Fenotype Frequentie Product: 0.0008**Tumorigenic** Ja, in naakte muizen. Bij een passage lager dan 35 is de lijn niet tumorigeen in naaktmuizen, maar vormt kolonies in zachte agar. Er is gemeld dat de tumorigeniciteit toeneemt boven passage 35.**Viruses** De cellen bevatten een tamelijk geïntegreerd SV40-genoom en er is gemeld dat ze een type D retrovirus kunnen bevatten dat lijkt op of identiek is aan het Mason-Pfizer apenvirus (MPMV).**Reverse transcriptase** Positief**Ploidy status** Aneuploïde**MSI-status** Stabiel (MSS)**Karyotype** Het aantal stamchromosomen is bijna triploïd met een modaal aantal van 67 chromosomen en de 2S-component komt voor bij 0,6%. De meeste chromosoomaanvullingen bestaan uit ongeveer 39 normale en 28 markerchromosomen. Markers zoals 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt en vele andere komen in de meeste metafasen voor. Normale chromosomen 11, 14, 15 en 16 zijn afwezig. 2, 12, 17 en 19 zijn monosomisch en de x is disomisch. DNA-profilering voor amelogenine, een geslachtschromosoomspecifieke PCR-test die x-chromosoomspecifieke producten kan onderscheiden van Y-chromosoomspecifieke producten, onthulde de aanwezigheid van Y-chromosomen in deze cellijn van vermoedelijk vrouwelijke oorsprong. Bevestiging van de algemene bevindingen werd bereikt door QM-kleuring, C-banding en FISH, met een hele chromosoomverf probe naar het menselijke Y-chromosoom.**Omgaan met****Culture Medium** McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS

## HBL-100 cellen | 300178

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

**Split ratio** Een verhouding van 1:2 wordt aanbevolen

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

**Post-Thaw Recovery** Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van  $5 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup> en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

## HBL-100 cellen | 300178

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## HBL-100 cellen | 300178

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

### STR profiel

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 10  
**D13S317:** 12  
**D16S539:** 9,12  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 8,12  
**TH01:** 6,8  
**TPOX:** 8  
**vWA:** 16  
**D3S1358:** 14,16  
**D21S11:** 28,30  
**D18S51:** 16  
**Penta E:** 7  
**Penta D:** 12  
**D8S1179:** 12,15  
**FGA:** 25

### HLA-allelen

**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