

## HBL-100-celler | 300178

## Generell informasjon

## Description

HBL-100 er en human brystepitelcellelinje som opprinnelig stammer fra morsmelk fra en ammende mor. Melken ble samlet inn tre dager etter fødselen, og til tross for at det ikke fantes tegn til brystlesjoner hos donoren og ingen brystkreft i familien, viste cellene en unormal karyotype ved passasje 7. Denne cellelinjen er kjent for sin evne til å syntetisere en liten mengde laktose og til å respondere på prolaktin- eller østrogenstimulering ved å øke produksjonen av kasein. Mikroskopiske analyser, som elektronmikrografier, har bekreftet tilstedeværelsen av mikrovilli, tonofibriller og desmosomer i disse cellene, noe som fremhever deres typiske epiteliale egenskaper.

HBL-100-cellelinjen har imidlertid støtt på betydelige komplikasjoner når det gjelder identifisering og karakterisering. Det viste seg at den inneholder et Y-kromosom, noe som tyder på en feilidentifisering, ettersom cellelinjen opprinnelig ble antatt å være av kvinnelig opprinnelse. Ytterligere kompleksitet oppstår som følge av tilstedeværelsen av SV40-genomsekvenser i cellelinjen, noe som strider mot tidligere oppfatninger om at den var spontant udødeliggjort. Disse funnene har ført til diskusjoner om opprinnelsen og den genetiske sammensetningen av HBL-100, noe som gjør den til en problematisk cellelinje for forskning uten grundig validering av dens egenskaper og opprinnelse.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Bryst

**Disease** Karsinom

**Synonyms** HBL 100, HBL100

## Kjennetegn

**Age** 27 år

**Gender** Kvinne

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Epitel-lignende

**Growth properties** Monolag, vedheftende

## Regulatoriske data

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

## HBL-100-celler | 300178

Biosafety level 1

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_4362

## Biomolekylære data

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, Fenotypefrekvensprodukt: 0.0008

Tumorigenic Ja, i nakne mus. Ved passasjenivåer under 35 er linjen ikke tumorigen i nakenmus, men danner kolonier i myk agar. Det er rapportert at tumorigenisiteten øker over passasje 35.

Viruses Cellene inneholder et tamdemly integrert SV40-genom, og det har blitt rapportert at de kan inneholde et type D-retrovirus som er likt eller identisk med Mason-Pfizer monkey virus (MPMV).

Reverse transcriptase Positiv

Ploidy status Aneuploid

MSI-status Stabil (MSS)

**Karyotype** Stamlinjekromosomantallet er nær triploid med et modalt antall på 67 kromosomer, og 2S-komponenten forekommer i 0,6 % av tilfellene. De fleste kromosomkomplementene består av ca. 39 normale kromosomer og 28 markørkromosomer. Markører som 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt og mange andre er felles for de fleste metafaser. De normale kromosomene 11, 14, 15 og 16 er fraværende. 2, 12, 17 og 19 er monosomiske, og x er disomisk. DNA-profilering for amelogenin, en kjønnskromosomspesifikk PCR-analyse som kan skille x-kromosomspesifikke produkter fra Y-kromosomspesifikke produkter, avslørte tilstedeværelsen av Y-kromosomer i denne cellelinjen av antatt kvinnelig opprinnelse. De generelle funnene ble bekreftet ved hjelp av QM-farging, C-banding og FISH, med en helkromosom paint-probe til det humane Y-kromosomet.

## Håndtering

Culture Medium McCoys 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820200a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

## HBL-100-celler | 300178

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** Et forhold på 1:2 anbefales

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

**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## HBL-100-celler | 300178

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## HBL-100-celler | 300178

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**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-alleler

**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