

**Komórki HBL-100 | 300178****Informacje ogólne****Description**

HBL-100 to ludzka linia komórek nabłonkowych piersi, pierwotnie uzyskana z mleka matki karmiącej. Mleko zostało pobrane trzy dni po porodzie i pomimo braku dowodów na uszkodzenie piersi u dawczyni i braku rodzinnej historii raka piersi, komórki wykazywały nieprawidłowy kariotyp do 7. przejścia. Ta linia komórkowa wyróżnia się zdolnością do syntezy niewielkiej ilości laktozy i reagowania na stymulację prolaktyną lub estrogenem poprzez zwiększenie produkcji kazeiny. Analizy mikroskopowe, takie jak mikrografie elektronowe, potwierdziły obecność mikrokosmków, tonofibryli i desmosomów w tych komórkach, podkreślając ich typowe cechy nabłonkowe.

Jednakże, linia komórkowa HBL-100 napotkała znaczące komplikacje dotyczące jej identyfikacji i charakterystyki. Stwierdzono, że zawiera chromosom Y, co sugeruje błędną identyfikację, ponieważ początkowo uważano, że linia komórkowa jest pochodzenia żeńskiego. Dalsza złożoność wynika z obecności sekwencji genomowych SV40 w linii komórkowej, co zaprzecza wcześniejszym przekonaniom, że została ona spontanicznie unieśmiertelniona. Odkrycia te doprowadziły do debat dotyczących pochodzenia i składu genetycznego HBL-100, czyniąc ją problematyczną linią komórkową do badań bez dokładnego potwierdzenia jej cech i pochodzenia.

**Organism** Człowiek**Tissue** Pierś**Disease** Rak**Synonyms** HBL 100, HBL100**Charakterystyka****Age** 27 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne****Citation** HBL-100 (numer katalogowy Cytion 300178)

## Komórki HBL-100 | 300178

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4362

## Dane biomolekularne

**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, produkt częstotliwości fenotypu: 0.0008

**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy. Przy poziomach pasażowania poniżej 35 linia nie jest nowotworowa u nagich myszy, ale tworzy kolonie w miękkim agarze. Stwierdzono, że nowotworowość wzrasta powyżej 35. pasażowania.

**Viruses** Komórki zawierają tamdemalnie zintegrowany genom SV40, donoszono, że mogą zawierać retrowirusa typu D, który jest podobny lub identyczny z wirusem małp Mason-Pfizer (MPMV).

**Reverse transcriptase** Pozytywny

**Ploidy status** Aneuploid

**MSI-status** Stabilny (MSS)

**Karyotype** Liczba chromosomów linii macierzystej jest bliska triploidalnej z modalną liczbą 67 chromosomów i składnikiem 2S występującym na poziomie 0,6%. Większość chromosomów składa się z około 39 normalnych i 28 markerowych chromosomów. Markery takie jak 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt i wiele innych są wspólne dla większości metafaz. Normalne chromosomy 11, 14, 15 i 16 są nieobecne. 2, 12, 17 i 19 są monosomiczne, a x jest disomiczny. Profilowanie DNA pod kątem amelogeniny, test PCR specyficzny dla chromosomów płciowych, który może odróżnić produkty specyficzne dla chromosomu x od produktów specyficznych dla chromosomu Y, ujawnił obecność chromosomów Y w tej linii komórkowej domniemanego pochodzenia żeńskiego. Potwierdzenie ogólnych ustaleń zostało osiągnięte poprzez barwienie QM, C-banding i FISH, z sondą do malowania całego chromosomu do ludzkiego chromosomu Y.

## Obsługa

**Culture Medium** McCoy's 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820200a)

**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS

**Komórki HBL-100 | 300178****Dissociation Reagent**      Accutase**Subculturing**      Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio**      Zalecany jest stosunek 1:2**Seeding density**       $1 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal**      2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery**      Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**Freeze medium**      Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki HBL-100 | 300178

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki HBL-100 | 300178****Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**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

**Allele 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