

## HBL-100-celler | 300178

## Allmän information

## Description

HBL-100 är en human bröstepitelcellinje som ursprungligen härrör från bröstmjölk från en ammande mamma. Mjölken samlades in tre dagar efter förlossningen och trots att det inte fanns några tecken på bröstlesioner hos donatorn och ingen bröstcancer i släkten uppvisade cellerna en onormal karyotyp vid passage 7. Denna cellinje är anmärkningsvärd för sin förmåga att syntetisera en liten mängd laktos och att svara på stimulering med prolaktin eller östrogen genom att öka produktionen av kasein. Mikroskopiska analyser, t.ex. elektronmikrografier, har bekräftat förekomsten av mikrovilli, tonofibriller och desmosomer i dessa celler, vilket understryker deras typiska epiteliala egenskaper.

Cellinjen HBL-100 har dock stött på betydande komplikationer när det gäller identifiering och karakterisering. Det visade sig att den innehöll en Y-kromosom, vilket tyder på en felidentifiering eftersom cellinjen ursprungligen ansågs vara av kvinnligt ursprung. Ytterligare komplexitet uppstår genom förekomsten av SV40-genomsekvenser i cellinjen, vilket motsäger tidigare uppfattningar om att den var spontant odödliggjord. Dessa fynd har lett till debatter om ursprunget och den genetiska sammansättningen hos HBL-100, vilket gör den till en problematisk cellinje för forskning utan grundlig validering av dess egenskaper och ursprung.

**Organism** Människan

**Tissue** Bröst

**Disease** Carcinom

**Synonyms** HBL 100, HBL100

## Egenskaper

**Age** 27 år

**Gender** Kvinna

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Epitelliknande

**Growth properties** Monolager, vidhäftande

## Lagstadgade uppgifter

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

## HBL-100-celler | 300178

Biosafety level 1

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_4362

## Biomolekylära 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, Fenotyp Frekvens Produkt: 0.0008

Tumorigenic Ja, i nakna möss. Vid passagenivåer under 35 är linjen inte tumörfremkallande i nakna möss, men bildar kolonier i mjuk agar. Tumörfremkallande förmåga har rapporterats öka över passage 35.

Viruses Cellerna innehåller ett tamdemlyintegrerat SV40-genom och det har rapporterats att de kan innehålla ett retrovirus av typ D som liknar eller är identiskt med Mason-Pfizer monkey virus (MPMV).

Reverse transcriptase Positiv

Ploidy status Aneuploid

MSI-status Stabilt (MSS)

**Karyotype** Stamlinjens kromosomantal är nära triploid med ett modalt antal på 67 kromosomer och 2S-komponenten förekommer med 0,6%. De flesta kromosomkomplement består av cirka 39 normala kromosomer och 28 markörkromosomer. Markörer som 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt och många andra är vanliga i de flesta metafaser. De normala kromosomerna 11, 14, 15 och 16 saknas. 2, 12, 17 och 19 är monosomiska, och x är disomisk. DNA-profilering för amelogenin, en könskromosomspecifik PCR-analys som kan skilja x-kromosomspecifika produkter från Y-kromosomspecifika produkter, visade att det fanns Y-kromosomer i denna cellinje av förmodat kvinnligt ursprung. De allmänna fynden bekräftades genom QM-färgning, C-bandning och FISH, med en färgprobe för hela kromosomen till den humana Y-kromosomen.

## Hantering

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS

**HBL-100-celler | 300178**

**Dissociation Reagent**      Accutase

**Subculturing**      Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

**Split ratio**      Ett förhållande på 1:2 rekommenderas

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

**Fluid renewal**      2 till 3 gånger per vecka

**Post-Thaw Recovery**      Efter upptining, plattlägg cellerna med  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

**Freeze medium**      Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## HBL-100-celler | 300178

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

## HBL-100-celler | 300178

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

### 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