

## Клітини HBL-100 | 300178

## Загальна інформація

## Description

HBL-100 - це лінія епітеліальних клітин молочної залози людини, отримана з грудного молока матері-годувальниці. Молоко було зібрано через три дні після пологів, і, незважаючи на відсутність ознак ураження молочної залози у донора і сімейного анамнезу раку молочної залози, клітини демонстрували аномальний каріотип на 7-му пасажі. Ця клітинна лінія відрізняється здатністю синтезувати невелику кількість лактози і реагувати на стимуляцію пролактином або естрогеном, збільшуючи виробництво казеїну. Мікроскопічні дослідження, такі як електронна мікрофотографія, підтвердили наявність мікроворсинок, тонофібрил і десмосом у цих клітинах, підкреслюючи їхні типові епітеліальні характеристики.

Однак, клітинні лінії HBL-100 зіткнулися зі значними ускладненнями щодо їх ідентифікації та характеристики. Було виявлено, що вона містить Y-хромосому, що свідчить про помилкову ідентифікацію, оскільки спочатку вважалося, що клітини цієї лінії мають жіноче походження. Ще одна складність пов'язана з наявністю генетичних послідовностей SV40 в клітинах лінії, що суперечить попереднім уявленням про її спонтанне безсмертя. Ці висновки призвели до дебатів щодо походження та генетичного складу HBL-100, що робить її проблематичною клітинною лінією для досліджень без ретельної перевірки її характеристик і походження.

**Organism** Людина

**Tissue** Груди

**Disease** Карцинома

**Synonyms** HBL 100, HBL100

## Характеристики

**Age** 27 років

**Gender** Жінка

**Ethnicity** Кавказець

**Morphology** Епітеліальноподібні

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

## Клітини HBL-100 | 300178

<b>Citation</b>	HBL-100 (номер за каталогом Cytion 300178)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4362

## Біомолекулярні дані

<b>Antigen expression</b>	HLA A1, A10, A11, B7, B8
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, ES-D, 1, Me-2, 0, GLO-1, 2, AK-1, 1-2, Продукт частоти фенотипу: 0.0008
<b>Tumorigenic</b>	Так, у голих мишей. На рівнях пасажу нижче 35 лінія не є пухлиногенною у голих мишей, але утворює колонії в м'якому агарі. Повідомлялося, що пухлиногенність зростає вище пасажу 35.
<b>Viruses</b>	Клітини містять тамдемічно інтегрований геном SV40; повідомлялося, що вони можуть містити ретровірус типу D, подібний або ідентичний до вірусу мавп Мейсона-Пфайзера (MPMV).
<b>Reverse transcriptase</b>	Позитивно
<b>Ploidy status</b>	Анеуплоїдний
<b>MSI-status</b>	Стабільний (MSS)
<b>Karyotype</b>	Число хромосом стовбурової лінії близьке до триплоїдного з модальним числом 67 хромосом і 2S-компонентом, що зустрічається на рівні 0,6%. Більшість хромосомних наборів складаються з 39 нормальних і 28 маркерних хромосом. Такі маркери, як 2q, 11q+, 11q, t(2q.12), t(2q.5q?), t(6p?.16), 16pt та багато інших є спільними для більшості метафаз. Нормальні хромосоми 11, 14, 15 і 16 відсутні. 2, 12, 17 і 19 - моносомні, а x - дисоматична. Профілювання ДНК на амелогенін, специфічний для статевих хромосом ПЛР-аналіз, який дозволяє відрізнити продукти, специфічні для X-хромосоми, від продуктів, специфічних для Y-хромосоми, виявив наявність Y-хромосом у цій клітинній лінії ймовірного жіночого походження. Підтвердження загальних висновків було досягнуто за допомогою QM-фарбування, С-бендингу та FISH, з використанням цілохромосомного зонда до Y-хромосоми людини.

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	McCoy's 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO <sub>3</sub> (Cytion article number 820200a)
-----------------------	--

## Клітини HBL-100 | 300178

**Supplements**      Додайте до середовища 10% FBS

**Dissociation Reagent**      Аккутаза

**Subculturing**      Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Seeding density**       $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>

**Fluid renewal**      2-3 рази на тиждень

**Post-Thaw Recovery**      Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

**Freeze medium**      Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Клітини HBL-100 | 300178

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Ні

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини HBL-100 | 300178

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

### HLA алелі

**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