

## Клетки B-LCL-HROC60 | 302004

## Обща информация

## Description

B-LCL-HROC60 е имунизирана с вируса на Епщайн-Бар (EBV) човешка В-лимфобластоидна клетъчна линия, създадена от тумор-инфилтриращи В-клетки (ТiВс), изолирани от първичен колоректален карцином, обозначен като HROC60. Родителският тумор произхожда от възрастен мъж с десен колоректален карцином от молекулярния подтип CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). Свежата туморна тъкан е механично разградена, за да се получат суспензии от единични клетки, а В-клетките са селективно имунизирани *in vitro*, като се използва супернатант, съдържащ EBV, получен от клетъчната линия B95/8 marmoset в присъствието на циклоспорин А, за да се потисне растежът на Т- и НК-клетките. Дългосрочното разширяване доведе до моноклонална В-клетъчна култура, както бе потвърдено чрез анализ на пренареждане на гените на тежките и леките вериги на имуноглобулина, използвайки стандартизирани клонални тестове.

B-LCL-HROC60 секретира имуноглобулин М (IgM) като доминиращ изотип, със стабилна продукция при продължителна култура. В по-широката серия от туморни инфилтриращи В-клетъчни линии, генерирани от колоректален карцином, секрецията на имуноглобулин беше ограничена до един основен изотип на клон, и не се наблюдаваше спонтанен растеж при отсъствие на екзогенен EBV, което изключва латентна *in vivo* трансформация, предизвикана от EBV. Като моноклонална, антигенно-опитна линия, произхождаща от ТiВс от колоректален карцином CIMP-H, B-LCL-HROC60 предоставя подходящ *in vitro* модел за изследване на хуморалните имунни реакции в микросредата на колоректалния тумор и за характеризирани на функционалните свойства на антителата, произхождащи от тумор-инфилтриращи В-клетки.

## Organism

Човек

## Tissue

Периферна кръв

## Disease

Карцином

## Synonyms

Bc HROC60, TіBcHROC60

## Характеристики

## Age

71 години

## Gender

Мъжки

## Ethnicity

Кавказки

## Morphology

Кръгли клетки

## Cell type

В лимфобласт

## Клетки B-LCL-HROC60 | 302004

**Growth properties**      Окачване

**Регулаторни данни**

**Citation**      B-LCL-HROC60 (каталожен номер 302004 на Cytion)

**Biosafety level**      2

**NCBI\_TaxID**      9606

**CellosaurusAccession**      CVCL\_A7UT

**Биомолекулярни данни**

**Surface antigens**      CD19

**Viruses**      Трансформатор: EBV

**Работа с**

**Culture Medium**      RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820700a)

**Supplements**      Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS

**Subculturing**      Нежно хомогенизирайте клетъчната суспензия в колбата, като я пипетирате нагоре и надолу, след което вземете представителна проба, за да определите клетъчната плътност на мл. Разрежете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от  $1 \times 10^5$  клетки/мл с прясна културална среда, и разпределете коригираната суспензия в нови колби за по-нататъшно култивиране.

**Freeze medium**      Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки B-LCL-HROC60 | 302004

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

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

**Flask Coating**

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Клетки B-LCL-HROC60 | 302004****Shipping  
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage  
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

**Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA****Sterility**

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

**HLA алели**

**A\***: '02:01:01, '11:01:01  
**B\***: '44:02:01, '55:01:01  
**C\***: '03:03:01, '05:01:01  
**DRB1\***: '01:01:01, '13:01:01  
**DQA1\***: '01:01:01, '01:03:01  
**DQB1\***: '05:01:01, '06:03:01  
**DPB1\***: '04:01:01  
**E**: '01:01:01