

**Buňky B-LCL-HROC60 | 302004****Obecné informace****Description**

B-LCL-HROC60 je lidská B lymfoblastoidní buněčná linie imortalizovaná virem Epstein-Barr (EBV), vytvořená z nádorových infiltrujících B buněk (TiBc) izolovaných z primárního kolorektálního karcinomu označeného jako HROC60. Původní nádor pocházel od dospělého muže s pravostranným kolorektálním karcinodem molekulárního subtypu CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). Čerstvá nádorová tkáň byla mechanicky rozložena, aby se získaly suspenze jednotlivých buněk, a B buňky byly selektivně imortalizovány in vitro pomocí supernatantu obsahujícího EBV odvozeného z buněčné linie B95/8 marmoset v přítomnosti cyklosporinu A k potlačení růstu T a NK buněk. Dlouhodobá expanze vedla k monoklonální kultuře B buněk, což bylo potvrzeno analýzou přestavby genů těžkých a lehkých řetězců imunoglobulinu pomocí standardizovaných testů klonality.

B-LCL-HROC60 sekreduje imunoglobulin M (IgM) jako svůj dominantní izotyp se stabilní produkcí během prodloužené kultivace. V širší sérii nádorových infiltrujících B-buněčných linií generovaných z kolorektálního karcinomu byla sekrece imunoglobulinu omezena na jeden hlavní izotyp na klon a nedošlo k žádnému spontánnímu růstu v nepřítomnosti exogenního EBV, což vylučuje latentní in vivo transformaci řízenou EBV. Jako monoklonální linie odvozená od TiBc s antigenovou zkušeností z kolorektálního karcinomu CIMP-H poskytuje B-LCL-HROC60 relevantní in vitro model pro zkoumání humorálních imunitních odpovědí v mikroprostředí kolorektálního nádoru a pro charakterizaci funkčních vlastností protilátek odvozených od B-buněk infiltrujících nádor.

**Organism**

Člověk

**Tissue**

Periferní krev

**Disease**

Karcinom

**Synonyms**

Bc HROC60, TiBcHROC60

**Charakteristika****Age**

71 let

**Gender**

Muži

**Ethnicity**

Kavkazský

**Morphology**

Kulaté buňky

**Cell type**

B lymfoblast

**Growth properties**

Zavěšení

**Buňky B-LCL-HROC60 | 302004****Regulační údaje**

<b>Citation</b>	B-LCL-HROC60 (katalogové číslo Cytion 302004)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A7UT
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

**Biomolekulární data**

<b>Surface antigens</b>	CD19
<b>Viruses</b>	Transformant: EBV

**Zpracování**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS
<b>Subculturing</b>	Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla $1 \times 10^5$ buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek pro další kultivaci.
<b>Freeze medium</b>	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

## Buňky B-LCL-HROC60 | 302004

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky B-LCL-HROC60 | 302004

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

### Alely HLA

**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