**Product sheet**

# B-LCL-HROC59 šūnas | 302073

## Vispārīga informācija

| | |
|---|---|
| **Description** | B-LCL-HROC59 ir Epšteina-Barra vīrusa (EBV) imortalizēta cilvēka B limfoblastoīdu šūnu līnija, kas iegūta no audzēja infiltrējošām B šūnām (TiBc), kas izdalītas no primārā kolorektālā karcinoma, kas apzīmēts kā HROC59. Mātes audzējs tika izgriezts no pieaugušam vīriešu pacientam ar labās puses sporādisku kolorektālo karcinomu un slimības progresējošu stadiju. Svaigs audzēja audi tika mehāniski sadalīti, lai iegūtu vienšūnu suspensijas, un B šūnas tika selektīvi imortalizētas in vitro, izmantojot EBV saturošu supernatantu, kas iegūts no B95/8 marmoset šūnu līnijas, klātbūtnē ciklosporīna A, lai nomāktu T un NK šūnu izplatīšanos. Ilgtermiņa kultivēšana rezultējās stabilā monoklonālo B šūnu populācijas izaugsmē, kā to pierāda imūnglobulīna gēna pārkārtojuma analīze.<br><br>B-LCL-HROC59 izdalīja imūnglobulīnu G (IgG) kā savu ekskluzīvo izotipu, ar stabilu ražošanu ilgstošas kultivēšanas laikā. Šūnu saistīšanās testos IgG, kas iegūts no B-LCL-HROC59, parādīja tikai minimālu saistīšanos ar testētajām alogēnajām kolorektālās karcinomas šūnu līnijām salīdzinājumā ar citiem TiBc iegūtiem IgG, kas parādīja spēcīgāku audzēja šūnu reaktivitāti. Kultūras izveides laikā bez eksogēna EBV klātbūtnes netika novērota spontāna B šūnu izaugsme, kas liecina, ka imortalizācija notika in vitro, nevis atspoguļoja latentas EBV izraisītas transformācijas in vivo. Kā monoklonāla, antigēnu pieredzējusi audzēju infiltrējoša B šūnu līnija, B-LCL-HROC59 nodrošina definētu modeli humoro imūnreakciju pētīšanai kolorektālā vēža mikroapvidū un audzēju saistīto antivielu specifiskuma un funkcionālo īpašību izpētei. |
| **Organism** | Cilvēks |
| **Tissue** | Perifērās asinis |
| **Disease** | Karcinoma |
| **Synonyms** | Bc HROC59, TiBcHROC59 |

## Raksturojums

| | |
|---|---|
| **Age** | 76 gadi |
| **Gender** | Vīrieši |
| **Ethnicity** | Kaukāzietis |
| **Morphology** | Apaļas šūnas |
| **Cell type** | B limfoblasts |
| **Growth properties** | Apturēšana |

# B-LCL-HROC59 šūnas | 302073

## Normatīvie dati

| | |
|---|---|
| **Citation** | B-LCL-HROC59 (Cytion kataloga numurs 302073) |
| **Biosafety level** | 2 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_A7US |

## Biomolekulārie dati

| | |
|---|---|
| **Surface antigens** | CD19 |
| **Viruses** | Transformants: EBV |

## Darbs ar

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a) |
| **Supplements** | Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS |
| **Subculturing** | Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1 x $10^5$ šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai. |
| **Freeze medium** | Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu. |

## B-LCL-HROC59 šūnas | 302073

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.<br>2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.<br>3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.<br>4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.<br>5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.<br>6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.<br>7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.<br>8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus. |
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra. |
| **Flask Coating** | Neviens |
| **Freezing Procedure** | Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu. |

## B-LCL-HROC59 šūnas | 302073

| | |
|---|---|
| **Shipping Conditions** | Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu. |
| **Storage Conditions** | Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli. |

## Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.<br><br>Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda. |
| **HLA alēles** | **A***: '03:01:01, '24:02:01<br>**B***: '01:02:01, '27:05:02<br>**C***: '02:02:02, '07:02:01<br>**DRB1***: '04:01:01, '15:01:01<br>**DQA1***: '01:02:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '03:02:01, '06:02:01<br>**DPB1***: '04:01:01, '14:01:01<br>**E**: '01:03:02 |