

Komórki B-LCL-HROC59 | 302073**Informacje ogólne****Description**

B-LCL-HROC59 to nieśmiertelna linia komórek limfoblastycznych B człowieka, wyhodowana z komórek B infiltrujących nowotwór (TiBc) izolowanych z pierwotnego raka jelita grubego oznaczonego jako HROC59. Nowotwór macierzysty został wycięty u dorosłego mężczyzny z prawostronnym sporadycznym rakiem jelita grubego w zaawansowanym stadium. Świeżą tkankę nowotworową rozdzielono mechanicznie w celu uzyskania zawiesiny pojedynczych komórek, a komórki B selektywnie unieśmiertelniono in vitro przy użyciu supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmozety w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania ekspansji komórek T i NK. Długotrwała hodowla doprowadziła do stabilnego wzrostu populacji komórek B monoklonalnych, co wykazała analiza rearanżacji genów immunoglobulin.

B-LCL-HROC59 wydziela immunoglobulinę G (IgG) jako swój wyłączny izotyp, wykazując stabilną produkcję podczas długotrwałej hodowli. W testach wiązania opartych na komórkach IgG pochodząca z B-LCL-HROC59 wykazała jedynie minimalne wiązanie z badanymi allogenicznymi liniami komórkowymi raka jelita grubego w porównaniu z innymi IgG pochodzącymi z TiBc, wykazującymi silniejszą reaktywność komórek nowotworowych. Nie zaobserwowano żadnych dowodów spontanicznego wzrostu komórek B w przypadku braku egzogenego wirusa EBV podczas ustanawiania hodowli, co wskazuje, że unieśmiertelnienie nastąpiło in vitro, a nie odzwierciedlało utajoną transformację wywołaną przez wirusa EBV in vivo. Jako monoklonalna, doświadczona antygenowo linia komórek B infiltrujących nowotwór, B-LCL-HROC59 stanowi określony model do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych w mikrośrodowisku raka jelita grubego oraz do badania specyficzności i właściwości funkcjonalnych przeciwciał związanych z nowotworem.

Organism Człowiek**Tissue** Krew obwodowa**Disease** Rak**Synonyms** Bc HROC59, TiBcHROC59**Charakterystyka****Age** 76 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Okrągłe komórki**Cell type** Limfoblast B

Komórki B-LCL-HROC59 | 302073**Growth properties**

Zawieszenie

Dane regulacyjne**Citation** B-LCL-HROC59 (numer katalogowy Cytion 302073)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7US**Depositor** M. Linnebacher**Dane biomolekularne****Surface antigens** CD19**Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS inaktywowanym termicznie**Subculturing** Delikatnie homogenizowac zawiesine komorek w kolbie, pipetujac w gore i w dol, a nastepnie pobrac reprezentatywna probke w celu okreslenia gestosci komorek na ml. Rozcieniczyc zawiesine swiezym podlozem hodowlanym, aby uzyskac stezenie komorek wynoszace 1×10^5 komorek/ml, a nastepnie podzielic dostosowanac zawiesine na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.**Freeze medium** Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiekszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacja.

Komórki B-LCL-HROC59 | 302073**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-HROC59 | 302073**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 11,13
D16S539: 11,13
D5S818: 11,12
D7S820: 10,13
TH01: 6,8
TPOX: 11
vWA: 18,19
D3S1358: 16,18
D21S11: 29,31.2
D18S51: 16
Penta E: 7,17
Penta D: 12,14
D8S1179: 13
FGA: 25

Allele HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '01:02:01, '27:05:02
C*: '02:02:02, '07:02:01
DRB1*: '04:01:01, '15:01:01
DQA1*: '01:02:01, '03:03:01
DQB1*: '03:02:01, '06:02:01
DPB1*: '04:01:01, '14:01:01
E: '01:03:02