

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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 x 10<sup>5</sup> komorek/ml, a nastepnie podzielic dostosowanã 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 zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 zawiesinowych, 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę 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