

Komórki B-LCL-HROC69 | 300864**Informacje ogólne****Description**

B-LCL-HROC69 to linia komórek limfoblastycznych B uwieczniona przez wirusa Epsteina-Barra (EBV), utworzona z komórek B infiltrujących nowotwór (TiBc) izolowanych z pierwotnej próbki raka jelita grubego oznaczonej jako HROC69. Nowotwór macierzysty pochodził od dorosłego mężczyzny z rakiem jelita grubego po prawej stronie, typu konwencjonalnego sporadycznego i w zaawansowanym stadium. Komórki B zostały wyizolowane ze świeżo wyciętej tkanki nowotworowej i unieśmiertelnione ex vivo przy użyciu supernatantu z linii komórkowej B95/8 marmozety produkującej EBV w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Wzrost klonów komórek B transformowanych przez EBV następował zazwyczaj w ciągu kilku tygodni, a klonalność potwierdzono poprzez analizę rearanżacji genów ciężkich i lekkich łańcuchów immunoglobulin przy użyciu protokołów wielokrotnej reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 wydziela immunoglobulinę A (IgA), co określono za pomocą testu ELISA specyficznego dla izotypów długotrwałych supernatantu hodowli. W przeciwieństwie do kilku równolegle ustanowionych linii TiBc wytwarzających IgG, IgA pochodząca z HROC69 nie została dalej scharakteryzowana pod kątem wiązania komórek nowotworowych w początkowych testach przesiewowych funkcjonalności. Co ważne, nie wystąpił spontaniczny wzrost kultur komórek B w przypadku braku egzogenego wirusa EBV, co wskazuje, że unieśmiertelnienie jest zjawiskiem in vitro, a nie konsekwencją utajonego zakażenia wirusem EBV in vivo. B-LCL-HROC69 stanowi zatem monoklonalny model komórek B infiltrujących nowotwór, które miały kontakt z antygenem, odpowiedni do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych w mikrośrodkowisku raka jelita grubego oraz do potencjalnej identyfikacji antygenów związanych z nowotworem rozpoznawanych przez lokalnie rozszerzone klony komórek B.

Organism Człowiek**Tissue** Krew obwodowa**Disease** Rak**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Charakterystyka****Age** 62 lata**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Okrągłe komórki**Cell type** Limfoblast B

Komórki B-LCL-HROC69 | 300864**Growth properties**

Zawieszenie

Dane regulacyjne**Citation** B-LCL-HROC69 (numer katalogowy Cytion 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**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 x 10⁵ 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-HROC69 | 300864**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-HROC69 | 300864

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 wykluczane 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.