

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078**Informacje ogólne****Description**

B-LCL-HROC68 to nieśmiertelna linia komórek limfoblastycznych B człowieka, uodporniona wirusem Epsteina-Barra (EBV), utworzona z komórek B infiltrujących nowotwór (TiBc) izolowanych z pierwotnego raka jelita grubego oznaczonego jako HROC68. Nowotwór macierzysty był rakiem jelita grubego typu sporadycznego, wycięty u dorosłego mężczyzny z zaawansowaną chorobą. Świeżą tkankę nowotworową poddano mechanicznej dysocjacji, a komórki B hodowano w obecności supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmozety, wraz z cyklosporyną A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Długotrwała hodowla spowodowała monoklonalną ekspansję komórek B, co potwierdzono analizą rearanżacji genów immunoglobulin przy użyciu protokołów wielokrotnej reakcji łańcuchowej polimerazy BIOMED-2, wykazując pojedynczy dominujący wzór rearanżacji zgodny z pochodzeniem klonalnym.

B-LCL-HROC68 wydziela immunoglobulinę G (IgG) jako swój wyłyczny izotyp, ze stabilną produkcją podczas długotrwałej hodowli. W badaniach przesiewowych ELISA opartych na komórkach przeciwko allogenicznym liniom komórkowym raka jelita grubego (HROC24, HROC46 i HCT116) IgG pochodzące z B-LCL-HROC68 wykazały mieralne wiązanie z komórkami nowotworowymi, przy czym najsilniejszy sygnał zaobserwowano w przypadku komórek HCT116. Jednak późniejsza walidacja metodą cytometrii przepływowej wykazała stosunkowo słabe powinowactwo wiązania w porównaniu z innymi IgG pochodzącymi z TiBc. Wyniki te wskazują, że B-LCL-HROC68 stanowi monoklonalną, doświadczoną antygenowo linię komórek B infiltrujących nowotwór, zdolną do produkcji funkcjonalnego IgG o wykrywalnej reaktywności komórek nowotworowych, stanowiąc użyteczne narzędzie in vitro do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych w mikrośrodkowisku raka jelita grubego oraz do potencjalnej identyfikacji antygenów związanych z nowotworem.

Organism Człowiek**Tissue** Krew obwodowa**Disease** Rak**Synonyms** Bc HROC68, TiBcHROC68**Charakterystyka****Age** 84 lata**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Okrągłe komórki**Cell type** Limfoblast B

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078**Growth properties**

Zawieszenie

Dane regulacyjne**Citation** B-LCL-HROC68 (numer katalogowy Cytion 302078)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UU**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 zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywolanego kriokonserwacja.

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078**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

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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078

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.

Allele HLA

A*: '02:01:01, '29:02:01
B*: '13:02:01, '44:03:01
C*: '06:02:01, '16:01:01
DRB1*: '07:01:01
DQA1*: '02:01:01
DQB1*: '02:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:01, '01:03