

**Komórki B-LCL-HROC60 | 302004****Informacje ogólne****Description**

B-LCL-HROC60 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 HROC60. Nowotwór macierzysty pochodził od dorosłego mężczyzny z rakiem jelita grubego po prawej stronie o fenotypie molekularnym CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). Świeżą tkankę nowotworową rozdzielono mechanicznie w celu uzyskania zawiesiny pojedynczych komórek, a komórki B uśmiercono selektywnie in vitro przy użyciu supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmoset w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Długotrwała ekspansja doprowadziła do powstania monoklonalnej kultury komórek B, co potwierdzono analizą rearanżacji genów ciężkich i lekkich łańcuchów immunoglobulin przy użyciu standardowych testów klonalności.

B-LCL-HROC60 wydziela immunoglobulinę M (IgM) jako dominujący izotyp, ze stabilną produkcją w trakcie długotrwałej hodowli. W szerszej serii linii komórek B infiltrujących nowotwór, wygenerowanych z raka jelita grubego, wydzielanie immunoglobulin było ograniczone do jednego głównego izotypu na klon i nie wystąpił spontaniczny wzrost w przypadku braku egzogenego wirusa EBV, co wyklucza utajoną transformację wywołaną przez wirusa EBV in vivo. Jako monoklonalna linia pochodząca z TiBc z raka jelita grubego CIMP-H, B-LCL-HROC60 stanowi odpowiedni model in vitro do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych w mikrośrodowisku guza jelita grubego oraz do charakteryzowania właściwości funkcjonalnych przeciwciał pochodzących z komórek B infiltrujących nowotwór.

**Organism** Człowiek**Tissue** Krew obwodowa**Disease** Rak**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Charakterystyka****Age** 71 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Okrągłe komórki**Cell type** Limfoblast B**Growth properties** Zawieszenie

**Komórki B-LCL-HROC60 | 302004****Dane regulacyjne**

<b>Citation</b>	B-LCL-HROC60 (numer katalogowy Cytion 302004)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A7UT
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

**Dane biomolekularne**

<b>Surface antigens</b>	CD19
<b>Viruses</b>	Transformant: EBV

**Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie
<b>Subculturing</b>	Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące $1 \times 10^5$ komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.
<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki B-LCL-HROC60 | 302004

### 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-HROC60 | 302004

### 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, '11:01:01  
**B\***: '44:02:01, '55:01:01  
**C\***: '03:03:01, '05:01:01  
**DRB1\***: '01:01:01, '13:01:01  
**DQA1\***: '01:01:01, '01:03:01  
**DQB1\***: '05:01:01, '06:03:01  
**DPB1\***: '04:01:01  
**E**: '01:01:01