

Bunky B-LCL-HROC60 | 302004**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-HROC60 je ľudská B-lymfoblastová bunka immortalizovaná vírusom Epstein-Barrová (EBV), vytvorená z nádorových infiltrujúcich B-buniek (TiBc) izolovaných z primárneho kolorektálneho karcinómu označeného ako HROC60. Pôvodný nádor pochádzal od dospelého mužského pacienta s pravostranným kolorektálnym karcinómom molekulárneho subtypu CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). Čerstvá nádorová tkanina bola mechanicky disociovaná, aby sa získali suspenzie jednotlivých buniek, a B bunky boli selektívne immortalizované in vitro pomocou supernatantu obsahujúceho EBV odvodeného z bunky B95/8 marmoset v prítomnosti cyklosporínu A na potlačenie rastu T a NK buniek. Dlhodobá expanzia viedla k monoklonálnej kultúre B-buniek, čo potvrdila analýza reorganizácie génov ťažkých a ľahkých reťazcov imunoglobulínu pomocou štandardizovaných testov klonality.

B-LCL-HROC60 vylučuje imunoglobulín M (IgM) ako svoj dominantný izotyp so stabilnou produkciou počas dlhodobej kultivácie. V širšej sérii nádorových infiltrujúcich B-buniek generovaných z kolorektálneho karcinómu bola sekrécia imunoglobulínu obmedzená na jeden hlavný izotyp na klon a v neprítomnosti exogénneho EBV nedošlo k spontánnemu rastu, čo vylučuje latentnú in vivo transformáciu spôsobenú EBV. Ako monoklonálna, antigénom skúsená línia odvodená od TiBc z kolorektálneho karcinómu CIMP-H, B-LCL-HROC60 poskytuje relevantný in vitro model na skúmanie humorálnych imunitných reakcií v mikroprostredí kolorektálneho nádoru a na charakterizovanie funkčných vlastností protilátok odvodených od B-buniek infiltrujúcich nádor.

Organism Ľudské**Tissue** Periférna krv**Disease** Karcinóm**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Charakteristika****Age** 71 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Okrúhle bunky**Cell type** B lymfoblast**Growth properties** Pozastavenie

Bunky B-LCL-HROC60 | 302004**Regulačné údaje****Citation** B-LCL-HROC60 (katalógové číslo Cytion 302004)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UT**Biomolekulárne údaje****Surface antigens** CD19**Viruses** Transformant: EBV**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS**Subculturing** Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1×10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky B-LCL-HROC60 | 302004**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky B-LCL-HROC60 | 302004

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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