

Клітини B-LCL-HROC59 | 302073

Загальна інформація

Description

B-LCL-HROC59 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія лімфобластоїдних клітин людини, отримана з інфільтруючих пухлину В-клітин (ТiВс), виділених з первинної колоректальної карциноми під назвою HROC59. Батьківська пухлина була видалена у дорослого пацієнта чоловічої статі з правобічною спорадичною колоректальною карциномою та захворюванням на пізній стадії. Свіжу пухлинну тканину механічно дисоціювали для отримання суспензій з одноклітинних клітин, а В-клітини селективно імунізували *in vitro* за допомогою супернатанта, що містив EBV, отриманого з клітинної лінії B95/8 мармозетки в присутності циклоспорину А для пригнічення розширення Т- і НК-клітин. Довготривале культивування призвело до стабільного зростання популяції моноклональних В-клітин, що було продемонстровано аналізом реорганізації генів імуноглобуліну.

B-LCL-HROC59 секретує імуноглобулін G (IgG) як свій ексклюзивний ізотип, з стабільною продукцією протягом тривалого культивування. У клітинних тестах на зв'язування IgG, отриманий з B-LCL-HROC59, продемонстрував лише мінімальне зв'язування з тестованими алогенними клітинними лініями колоректального раку в порівнянні з іншими IgG, отриманими з ТiВс, які виявляли сильнішу реактивність до пухлинних клітин. Під час встановлення культури не було виявлено жодних ознак спонтанного розростання В-клітин за відсутності екзогенного EBV, що вказує на те, що імунізація відбулася *in vitro*, а не відображала латентну трансформацію, спричинену EBV *in vivo*. Як моноклональна лінія В-клітин, що інфільтрують пухлину та мають досвід взаємодії з антигеном, B-LCL-HROC59 забезпечує визначену модель для вивчення гуморальних імунних реакцій у мікросередовищі колоректального раку та для дослідження специфічності та функціональних властивостей антитіл, пов'язаних з пухлиною.

Organism Людина

Tissue Периферична кров

Disease Карцинома

Synonyms Bc HROC59, TiBcHROC59

Характеристики

Age 76 років

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Круглі клітини

Cell type Лімфобласт В

Клітини B-LCL-HROC59 | 302073

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation B-LCL-HROC59 (номер за каталогом Cytion 302073)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7US

Біомолекулярні дані

Surface antigens CD19

Viruses Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS

Subculturing Акратно гомогенізуйте суспензію клітин у колбі, піпетуючи її вгору і вниз, а потім візьміть репрезентативну пробу для визначення щільності клітин на мл. Розведіть суспензію свіжим культуральним середовищем до концентрації 1×10^5 клітин/мл і розлийте відрегульовану суспензію в нові колби для подальшого культивування.

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини B-LCL-HROC59 | 302073**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-HROC59 | 302073

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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