**Product sheet**

# Клітини B-LCL-HROC59 | 302073

## Загальна інформація

| | |
|---|---|
| **Description** | B-LCL-HROC59 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія лімфобластоїдних клітин людини, отримана з клітин B, що інфільтрують пухлину (TiBc), виділених з первинної колоректальної карциноми, позначеної 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 одноклітинними клітинами, а B-клітини селективно імунізували in vitro за допомогою супернатанта, що містив EBV, отриманого з клітинної лінії B95/8 мармозетки в присутності циклоспорину A для пригнічення розширення T- і NK-клітин. Довготривале культивування призвело до стабільного зростання популяції моноклональних B-клітин, що було продемонстровано аналізом реорганізації генів імуноглобуліну.<br><br>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 TiBc, які виявляли сильнішу реактивність до пухлинних клітин. Під час встановлення культури не було виявлено жодних ознак спонтанного розростання B-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 B-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 B |

# 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** | Акуратно 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 x $10^5$ 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, зануривши 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 x 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. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

## Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

## Flask Coating

Ні

## Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце 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 та молекулярний аналіз

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.<br><br>Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю. |
| **HLA алелі** | **A***: '03:01:01, '24:02:01<br>**B***: '01:02:01, '27:05:02<br>**C***: '02:02:02, '07:02:01<br>**DRB1***: '04:01:01, '15:01:01<br>**DQA1***: '01:02:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '03:02:01, '06:02:01<br>**DPB1***: '04:01:01, '14:01:01<br>**E**: '01:03:02 |