

## 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 NK-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, TіBcHROC59

## 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 NaHCO<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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 криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$ , 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 криовіал 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  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 перевірених ізольованих 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, грибового 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