

## Клітини B-LCL-HROC69 | 300864

## Загальна інформація

## Description

B-LCL-HROC69 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія В-лімфобластоїдних клітин, створена з В-клітин, що інфільтрують пухлину (ТiВс), виділених з первинного зразка колоректального раку, позначеного як HROC69. Батьківська пухлина походила від дорослого пацієнта чоловічої статі з правобічним колоректальним раком звичайного спорадичного типу та захворюванням на пізній стадії. В-клітини були виділені зі свіжовидаленої пухлинної тканини та імунізовані *ex vivo* за допомогою супернатанта з клітинної лінії B95/8 мармозет, що продукує EBV, у присутності циклоспорину А для пригнічення росту Т- та NK-клітин. Зростання клонів В-клітин, трансформованих EBV, зазвичай відбувалося протягом декількох тижнів, а клональність підтверджувалася аналізом перегрупування генів важких і легких ланцюгів імуноглобуліну за допомогою протоколів мультиплексного ПЛР BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 секретує імуноглобулін А (IgA), що було визначено за допомогою ізотип-специфічного ELISA довготривалих культуральних супернатантів. На відміну від декількох ліній ТiВс, що продукують IgG, створених паралельно, IgA, отриманий з HROC69, не був додатково охарактеризований щодо зв'язування з пухлинними клітинами в початкових функціональних скринінгових аналізах. Важливо, що в відсутність екзогенного EBV не відбувалося спонтанного розростання культур В-клітин, що вказує на те, що імунізація є *in vitro* явищем, а не наслідком латентної інфекції EBV *in vivo*. Отже, B-LCL-HROC69 представляє собою моноклональну модель В-клітин, що інфільтрують пухлину, з досвідом антигену, яка підходить для дослідження гуморальних імунних реакцій у мікросередовищі колоректального раку та для потенційної ідентифікації пухлинних антигенів, що розпізнаються локально розширеними клонами В-клітин.

**Organism** Людина

**Tissue** Периферична кров

**Disease** Карцинома

**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TіBсHROC69

## Характеристики

**Age** 62 роки

**Gender** Чоловік

**Ethnicity** Кавказець

**Morphology** Круглі клітини

**Cell type** Лімфобласт В

## Клітини B-LCL-HROC69 | 300864

**Growth properties** Підвіска

## Нормативні дані

**Citation** B-LCL-HROC69 (номер за каталогом Cytion 300864)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_YD53

## 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-HROC69 | 300864

### 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-HROC69 | 300864

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих 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.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Зберігання при  $-80^{\circ}\text{C}$  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.