

Клітини B-LCL-HROC57 | 302072

Загальна інформація

Description

B-LCL-HROC57 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія людських В-лімфобластоїдних клітин, створена з В-клітин, що інфільтрують пухлину (ТіВс), виділених з первинної колоректальної карциноми під назвою HROC57. Батьківська пухлина походила від дорослого пацієнта чоловічої статі з правобічною колоректальною карциномою, що виявляла нейроендокринну диференціацію та перебувала на пізній стадії захворювання. 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 інгібування росту Т- і НК-клітин. Довготривала експансія дала стабільну моноклональну культуру В-клітин, що було підтверджено аналізом реорганізації генів імуноглобуліну.

B-LCL-HROC57 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-HROC57, демонструє вимірюване зв'язування з алогенними клітинними лініями колоректального раку, з проміжною інтенсивністю зв'язування відносно інших IgG, отриманих з ТіВс. Аналіз імунофлуоресценції вказує на переважно внутрішньоклітинне розпізнавання мішені в пухлинних клітинах. Під час культивування в відсутність екзогенного EBV не відбувається спонтанного розростання В-клітин, що виключає латентну трансформацію, спричинену EBV *in vivo*. Як моноклональна лінія В-клітин, що інфільтрують пухлину та мають досвід взаємодії з антигеном, B-LCL-HROC57 представляє собою визначену модель для дослідження гуморальних імунних реакцій у колоректальному раку та для ідентифікації пухлинних антигенів, що розпізнаються локально розширеними клонами В-клітин.

Organism Людина

Tissue Периферична кров

Disease Карцинома

Synonyms Bc HROC57, TіBcHROC57

Характеристики

Age 43 роки

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Круглі клітини

Cell type Лімфобласт В

Клітини B-LCL-HROC57 | 302072

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation B-LCL-HROC57 (номер за каталогом Cytion 302072)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UR

Біомолекулярні дані

Surface antigens CD19

Viruses Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM 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 1×10^5 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-HROC57 | 302072

**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°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 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°C , 5% 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°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-HROC57 | 302072

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, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '08:01:01, '27:01:01
C*: '06:02:01, '07:01:01
DRB1*: '03:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01:01, '03:03:02
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:01:01, '01:03:02