Product sheet

Клетки B-LCL-HROC285 | 300869

Обща информация

Description	B-LCL-HROC285 е трансформирана с вируса на Епщайн-Барр (EBV) клетъчна линия от B лимфоцити, получена от пациент, който е имал аденокарцином на дебелото черво, свързан със синдрома на Линч. Този специфичен вид рак на дебелото черво е свързан с наследствения неполипозен колоректален рак (HNPCC), който обикновено се причинява от мутации в гените за възстановяване на ДНК несъответствия. Клетъчната линия B-LCL-HROC285 дава възможност за изучаване на процесите на трансформация, свързани с EBV, в B-клетките, както и за опознаване на имунните реакции, свързани с рака. B-LCL-HROC285 предоставя ценен инструмент за разбиране на взаимодействието на имунната система с раковите клетки, по-специално как трансформираните B клетки могат да взаимодействат с имунната среда при колоректалния рак, възникващ при синдрома на Линч. Тази клетъчна линия е полезна за имунологични и онкологични изследвания поради генетичния си произход и процеса на трансформация на EBV, за който е известно, че влияе върху пролиферацията на B-клетките и клоналния подбор.
Organism	Човек
Tissue	Периферна кръв
Disease	Аденокарцином
Metastatic site	Неприложимо (EBV-трансформирана B-LCL от пациент с колоректален карцином, свързан със синдрома на Линч)
Applications	Тестове за T-клетки и NK-клетки; HLA-типизиране; имунология на синдрома на Линч; имунен отговор, свързан с дефицит на механизма за поправка на несъответствия (MMR); клетки-мишени за тестове на цитотоксични T-клетки (CTL); проучвания с биобанка HROC, съобразени с конкретни пациенти
Synonyms	B-LCL CO285, Bc HROC285

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Кръгли клетки
Cell type	B лимфобласт

Клетки B-LCL-HROC285 | 300869

Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Citation	B-LCL-HROC285 (каталожен номер 300869 на Cytion)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не е определено
GMO Status	GMO-S2: Тази B-LCL съдържа стабилно поддържан епизом на EBV (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV е класифициран в рискова група 2; изисква се изолация от ниво BSL-2. Тази класификация важи за територията на Германия; в други държави нормативните изисквания могат да се различават.

Биомолекулярни данни

Viruses	Трансформатор: EBV

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS
Subculturing	Нежно хомогенизирайте клетъчната суспензия в колбата, като я пипетирате нагоре и надолу, след което вземете представителна проба, за да определите клетъчната плътност на мл. Разредете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от 1 x 10^5 клетки/мл с прясна културална среда, и разпределете коригираната суспензия в нови колби за по-нататъшно култивиране.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки B-LCL-HROC285 | 300869

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки B-LCL-HROC285 | 300869

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.