

Клетки B-LCL-HROC69 | 300864

Обща информация

Description

B-LCL-HROC69 е имунизирана с вируса на Епщайн-Бар (EBV) В-лимфобластоидна клетъчна линия, създадена от туморни инфилтриращи В-клетки (ТiВс), изолирани от първична проба от колоректален карцином, обозначена като HROC69. Родителският тумор произхожда от възрастен мъж с десен колоректален карцином от конвенционален спорадичен тип и напреднал стадий на заболяването. В-клетките са изолирани от прясно резецирана туморна тъкан и имунизирани *ex vivo*, като се използва супернатант от клетъчната линия B95/8 на мармозет, произвеждаща EBV, в присъствието на циклоспорин А за потискане на растежа на Т- и НК-клетки. Разрастването на EBV-трансформирани клоно на В-клетки обикновено се е случвало в рамките на няколко седмици, а клоналността е била потвърдена чрез анализ на пренареждане на гени на тежки и леки вериги на имуноглобулин, използвайки BIOMED-2 мултиплексни PCR протоколи.

B-LCL-HROC69 секретира имуноглобулин А (IgA), както е определено чрез изотип-специфичен ELISA на супернатанти от дългосрочна култура. За разлика от няколко паралелно установени линии ТiВс, произвеждащи IgG, IgA, получен от HROC69, не беше допълнително характеризирани за свързване с туморни клетки в първоначалните функционални скринингови тестове. Важно е да се отбележи, че не се наблюдава спонтанно разрастване на В-клетъчните култури при отсъствие на екзогенен EBV, което показва, че имортализацията е *in vitro* събитие, а не последица от латентна EBV инфекция *in vivo*. Следователно B-LCL-HROC69 представлява моноклонал, антигенно опитен модел на туморни инфилтриращи В-клетки, подходящ за изследване на хуморалните имунни реакции в микросредата на колоректалния карцином и за потенциалното идентифициране на туморни антигени, разпознавани от локално разширени клоно на В-клетки.

Organism

Човек

Tissue

Периферна кръв

Disease

Карцином

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Характеристики

Age

62 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Кръгли клетки

Cell type

В лимфобласт

Клетки B-LCL-HROC69 | 300864

Growth properties Окачване

Регулаторни данни

Citation B-LCL-HROC69 (каталожен номер 300864 на Cytion)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_YD53

Биомолекулярни данни

Surface antigens CD19

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. Разрежете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от 1×10^5 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-HROC69 | 300864

**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 или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

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

Клетки B-LCL-HROC69 | 300864

Shipping Conditions

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.

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 / Генетичен профил / HLA

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.