

Клетки B-LCL-HROC57 | 302072

Обща информация

Description

B-LCL-HROC57 е имунизирана с вируса на Епщайн-Бар (EBV) човешка В-лимфобластоидна клетъчна линия, създадена от тумор-инфилтриращи В-клетки (ТiВс), изолирани от първичен колоректален карцином, обозначен като HROC57. Родителският тумор произхожда от възрастен мъж с десен колоректален карцином, проявяващ невроендокринна диференциация и напреднал стадий на заболяването. Свежата туморна тъкан е механично разградена, за да се получат суспензии от единични клетки, а В-клетките са селективно имунизирани *in vitro*, като се използва супернатант, съдържащ EBV, получен от клетъчната линия B95/8 marmoset в присъствието на циклоспорин А, за да се инхибира растежът на Т- и НК-клетки. Дългосрочното разширяване доведе до стабилна моноклонална В-клетъчна култура, както е потвърдено от анализа на пренареждането на имуноглобулиновия ген.

B-LCL-HROC57 секретира имуноглобулин G (IgG) като свой изключителен изотип, със стабилна продукция при продължителна култура. В клетъчни тестове за свързване, IgG, получен от B-LCL-HROC57, демонстрира измеримо свързване с алогенни клетъчни линии на колоректален карцином, с интензивност на свързване, която е средна в сравнение с други IgG, получени от ТiВс. Имунофлуоресцентни анализи показват предимно вътреклетъчно разпознаване на целта в туморните клетки. При отсъствие на екзогенен EBV по време на установяването на културата не се наблюдава спонтанно разрастване на В-клетки, което изключва латентна трансформация, предизвикана от EBV *in vivo*. Като моноклонална, антигенно-опитна тумор-инфилтрираща В-клетъчна линия, B-LCL-HROC57 представлява дефиниран модел за изследване на хуморалните имунни реакции при колоректален карцином и за идентифициране на тумор-асоциирани антигени, разпознавани от локално разширени В-клетъчни клонони.

Organism

Човек

Tissue

Периферна кръв

Disease

Карцином

Synonyms

Bc HROC57, TіBcHROC57

Характеристики

Age

43 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Кръгли клетки

Cell type

В лимфобласт

Клетки B-LCL-HROC57 | 302072

Growth properties Окачване

Регулаторни данни

Citation B-LCL-HROC57 (каталожен номер 302072 на Cytion)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UR

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-HROC57 | 302072

**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 антиминобен 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 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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-HROC57 | 302072

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.

HLA алели

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