Product sheet

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 туморни инфилтриращи В клетки (TiBc), 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 NK-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 колоректални карциномни клетъчни линии, с интензивност на свързване, която е средна в сравнение с други IgG, получени от TiBc. Имунофлуоресцентни анализи показват предимно вътреклетъчно разпознаване на мишени 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 клони.
Organism	Човек
Tissue	Периферна кръв
Disease	Карцином
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

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. 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-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 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-HROC57 | 302072

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.
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