

Buňky B-LCL-HROC69 | 300864

Obecné informace

Description

B-LCL-HROC69 je buněčná linie B lymfoblastoidních buněk imortalizovaná virem Epstein-Barr (EBV), vytvořená z nádorových infiltrujících B buněk (TiBc) izolovaných z primárního vzorku kolorektálního karcinomu označeného jako HROC69. Původní nádor pocházel od dospělého muže s pravostranným kolorektálním karcinomem konvenčního sporadického typu a pokročilým stadiem onemocnění. B buňky byly izolovány z čerstvě resekované nádorové tkáně a imortalizovány ex vivo pomocí supernatantu z EBV produkující buněčné linie B95/8 marmoset v přítomnosti cyklosporinu A k potlačení růstu T a NK buněk. K růstu klonů B buněk transformovaných EBV obvykle docházelo během několika týdnů a klonalita byla potvrzena analýzou přestavby genů těžkých a lehkých řetězců imunoglobulinu pomocí multiplexních PCR protokolů BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 sekreduje imunoglobulin A (IgA), jak bylo stanoveno pomocí izotypově specifického ELISA dlouhodobých kultivačních supernatantů. Na rozdíl od několika paralelně vytvořených linií TiBc produkujících IgG nebyl IgA pocházející z HROC69 dále charakterizován z hlediska vazby na nádorové buňky v počátečních funkčních screeningových testech. Důležité je, že v nepřítomnosti exogenního EBV nedošlo k žádnému spontánnímu růstu B-buněčných kultur, což naznačuje, že imortalizace je spíše in vitro jevem než důsledkem latentní infekce EBV in vivo. B-LCL-HROC69 proto představuje monoklonální model B-buněk infiltrujících nádor, které mají zkušenost s antigenem, vhodný pro zkoumání humorálních imunitních odpovědí v mikroprostředí kolorektálního karcinomu a pro potenciální identifikaci nádorových antigenů rozpoznávaných lokálně expandovanými klony B-buněk.

Organism

Člověk

Tissue

Periferní krev

Disease

Karcinom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Charakteristika

Age

62 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Kulaté buňky

Cell type

B lymfoblast

Growth properties

Zavěšení

Buňky B-LCL-HROC69 | 300864

Regulační údaje

Citation	B-LCL-HROC69 (katalogové číslo Cytion 300864)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_YD53
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekulární data

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS
Subculturing	Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1×10^5 buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek pro další kultivaci.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky B-LCL-HROC69 | 300864**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky B-LCL-HROC69 | 300864

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.