Product sheet

Buňky B-LCL-HROC68 | 302078

Obecné informace

Description	B-LCL-HROC68 je lidská B lymfoblastoidní buněčná linie imortalizovaná virem Epstein-Barr (EBV), vytvořená z nádorových infiltrujících B buněk (TiBc) izolovaných z primárního kolorektálního karcinomu označeného jako HROC68. Původním nádorem byl sporadický kolorektální karcinom resekovaný u dospělého muže s pokročilým stadiem onemocnění. Čerstvá nádorová tkáň byla mechanicky disociována a B buňky byly kultivovány v přítomnosti supernatantu obsahujícího EBV odvozeného z buněčné linie B95/8 marmoset, společně s cyklosporinem A k potlačení růstu T a NK buněk. Dlouhodobá kultura vedla k monoklonální expanzi B buněk, což bylo potvrzeno analýzou přeskupení imunoglobulinového genu pomocí multiplexních PCR protokolů BIOMED-2, která prokázala jediný dominantní vzorec přeskupení v souladu s klonálním původem. B-LCL-HROC68 sekretuje imunoglobulin G (IgG) jako svůj výlučný izotyp, se stabilní produkcí během prodloužené kultivace. Při buněčném ELISA screeningu proti alogenním buněčným liniím kolorektálního karcinomu (HROC24, HROC46 a HCT116) prokázal IgG odvozený z B-LCL-HROC68 měřitelnou vazbu na nádorové buňky, přičemž nejsilnější signál byl pozorován u buněk HCT116. Následná validace pomocí průtokové cytometrie však ukázala relativně slabou vazebnou afinitu ve srovnání s jinými IgG odvozenými z TiBc. Tyto výsledky naznačují, že B-LCL-HROC68 představuje monoklonální, antigenem exponovanou linii B-buněk infiltrujících nádor, schopnou produkovat funkční IgG s detekovatelnou reaktivitou na nádorové buňky, což poskytuje užitečný in vitro nástroj pro zkoumání humorálních imunitních odpovědí v mikroprostředí kolorektálního karcinomu a pro potenciální identifikaci nádorových antigenů.
Organism	Člověk
Tissue	Periferní krev
Disease	Karcinom
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Charakteristika

Age	84 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Kulaté buňky
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Zavěšení

Buňky B-LCL-HROC68 | 302078

Regulační údaje

Citation	B-LCL-HROC68 (katalogové číslo Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU
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 NaHCO3 (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 zřeďte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1 x 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-HROC68 | 302078

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 odstřeďujte 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.

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 vizuálním kontrolám.
Alely HLA	**A***: '02:01:01, '29:02:01 **B***: '13:02:01, '44:03:01 **C***: '06:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01 **DPB1***: '01:01:01, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03