Product sheet

Κύτταρα B-LCL-HROC59 | 302073

Γενικές πληροφορίες

Description	Το B-LCL-HROC59 είναι μια αθανατοποιημένη με τον ιό Epstein-Barr (EBV) ανθρώπινη κυτταρική σειρά Β λεμφοβλαστικών κυττάρων που παράγεται από Β κύτταρα που διεισδύουν σε όγκους (TiBc) που απομονώθηκαν από ένα πρωτοπαθές καρκίνωμα του παχέος εντέρου με την ονομασία HROC59. Ο γονικός όγκος αφαιρέθηκε από έναν ενήλικα άνδρα ασθενή με σποραδικό καρκίνωμα του παχέος εντέρου στη δεξιά πλευρά και νόσο σε προχωρημένο στάδιο. Ο φρέσκος όγκος διαχωρίστηκε μηχανικά για να ληφθούν εναιωρήματα μονών κυττάρων και τα Β κύτταρα αθανατοποιήθηκαν επιλεκτικά in vitro χρησιμοποιώντας υπερκείμενο που περιείχε EBV και προέρχονταν από την κυτταρική σειρά B95/8 marmoset παρουσία κυκλοσπορίνης Α για την καταστολή της επέκτασης των Τ και NK κυττάρων. Η μακροχρόνια καλλιέργεια είχε ως αποτέλεσμα τη σταθερή ανάπτυξη ενός μονοκλωνικού πληθυσμού Β κυττάρων, όπως αποδείχθηκε από την ανάλυση αναδιάταξης του γονιδίου της ανοσοσφαιρίνης. Το B-LCL-HROC59 εκκρίνει ανοσοσφαιρίνη G (IgG) ως αποκλειστικό ισοτύπο, με σταθερή παραγωγή κατά τη διάρκεια παρατεταμένης καλλιέργειας. Σε δοκιμές σύνδεσης με βάση τα κύτταρα, η IgG που προέρχεται από το B-LCL-HROC59 έδειξε μόνο ελάχιστη σύνδεση με τις δοκιμασμένες αλλογενείς κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου σε σύγκριση με άλλες IgG που προέρχονται από TiBc και παρουσιάζουν ισχυρότερη αντιδραστικότητα των καρκινικών κυττάρων. Δεν παρατηρήθηκαν ενδείξεις αυθόρμητης ανάπτυξης Β-κυττάρων απουσία εξωγενούς EBV κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας, υποδηλώνοντας ότι η αθανατοποίηση συνέβη in vitro και δεν αντανακλούσε λανθάνουσα μετασχηματισμό που προκαλείται από EBV in vivo. Ως μονοκλωνική, αντιγονικά έμπειρη σειρά Β-κυττάρων που διεισδύουν σε όγκους, η B-LCL-HROC59 παρέχει ένα καθορισμένο μοντέλο για τη μελέτη των χυμικών ανοσολογικών αποκρίσεων στο μικροπεριβάλλον του καρκίνου του παχέος εντέρου και για τη διερεύνηση της ειδικότητας και των λειτουργικών ιδιοτήτων των αντισωμάτων που σχετίζονται με τον όγκο.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Περιφερικό αίμα
Disease	Καρκίνωμα
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Χαρακτηριστικά

Age	76 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Στρογγυλά κύτταρα

Κύτταρα B-LCL-HROC59 | 302073

Cell type	Β λεμφοβλάστη
Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	B-LCL-HROC59 (αριθμός καταλόγου Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Βιομοριακά δεδομένα

Surface antigens	CD19
Viruses	Μετασχηματιστής: EBV

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS
Subculturing	Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με πιπέτωση προς τα πάνω και προς τα κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα για να επιτύχετε συγκέντρωση κυττάρων 1 x 10^5 κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το ρυθμισμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα B-LCL-HROC59 | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα B-LCL-HROC59 | 302073

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02