

Κύτταρα B-LCL-HROC59 | 302073

Γενικές πληροφορίες

Description

Το B-LCL-HROC59 είναι μια αθανατοποιημένη με τον ιό Epstein-Barr (EBV) ανθρώπινη κυτταρική σειρά B λεμφοβλαστικών κυττάρων που παράγεται από B κύτταρα που διεισδύουν σε όγκους (TiBc) που απομονώθηκαν από ένα πρωτοπαθές καρκίνωμα του παχέος εντέρου με την ονομασία HROC59. Ο γονικός όγκος εκτομήθηκε 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 B κύτταρα αθανατοποιήθηκαν επιλεκτικά in vitro χρησιμοποιώντας υπερκείμενο που περιείχε EBV και προέρχονταν από την κυτταρική σειρά B95/8 marmoset παρουσία κυκλοσπορίνης A για την καταστολή της επέκτασης των T και NK κυττάρων. Η μακροχρόνια καλλιέργεια είχε ως αποτέλεσμα τη σταθερή ανάπτυξη ενός μονοκλωνικού πληθυσμού B 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 B-κυττάρων απουσία εξωγενούς EBV κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας, υποδηλώνοντας ότι η αθανάτοποίηση συνέβη in vitro και δεν αντανακλούσε λανθάνουσα μεταμόρφωση που προκαλείται από EBV in vivo. Ως μονοκλωνική, αντιγονικά έμπειρη σειρά B-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** B 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 1×10^5 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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες 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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**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