Product sheet

Κύτταρα B-LCL-HROC68 | 302078

Γενικές πληροφορίες

Description	Το B-LCL-HROC68 είναι μια αθανατοποιημένη με τον ιό Epstein-Barr (EBV) ανθρώπινη κυτταρική σειρά Β λεμφοβλαστικών κυττάρων που δημιουργήθηκε από Β κύτταρα που διεισδύουν σε όγκους (TiBc) που απομονώθηκαν από ένα πρωτοπαθές καρκίνωμα του παχέος εντέρου με την ονομασία HROC68. Ο γονικός όγκος ήταν ένα σποραδικό καρκίνωμα του παχέος εντέρου που αφαιρέθηκε από έναν ενήλικα άνδρα ασθενή με προχωρημένο στάδιο της νόσου. Ο φρέσκος όγκος διαχωρίστηκε μηχανικά και τα Β κύτταρα καλλιεργήθηκαν παρουσία υπερκείμενου υγρού που περιείχε EBV, το οποίο προήλθε από την κυτταρική σειρά B95/8 marmoset, μαζί με κυκλοσπορίνη Α για την καταστολή της ανάπτυξης Τ και NK κυττάρων. Η μακροχρόνια καλλιέργεια είχε ως αποτέλεσμα τη μονοκλωνική επέκταση των Β κυττάρων, όπως επιβεβαιώθηκε από την ανάλυση αναδιάταξης του γονιδίου της ανοσοσφαιρίνης χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα BIOMED-2 multiplex PCR, αποδεικνύοντας ένα ενιαίο κυρίαρχο μοτίβο αναδιάταξης σύμφωνο με την κλωνική προέλευση. Το B-LCL-HROC68 εκκρίνει ανοσοσφαιρίνη G (IgG) ως αποκλειστικό ισοτύπο, με σταθερή παραγωγή κατά τη διάρκεια παρατεταμένης καλλιέργειας. Σε κυτταρική διαλογή ELISA έναντι αλλογενών κυτταρικών σειρών καρκίνου του παχέος εντέρου (HROC24, HROC46 και HCT116), η IgG που προέρχεται από B-LCL-HROC68 έδειξε μετρήσιμη σύνδεση με καρκινικά κύτταρα, με το ισχυρότερο σήμα να παρατηρείται έναντι των κυττάρων HCT116. Ωστόσο, η επακόλουθη επικύρωση με κυτταρομετρία ροής έδειξε συγκριτικά ασθενή συγγένεια σύνδεσης σε σχέση με άλλες IgG που προέρχονται από TiBc. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι το B-LCL-HROC68 αντιπροσωπεύει μια μονοκλωνική, αντιγονικά έμπειρη σειρά Β-κυττάρων που διεισδύουν στον όγκο, ικανή να παράγει λειτουργική IgG με ανιχνεύσιμη αντιδραστικότητα των καρκινικών κυττάρων, παρέχοντας ένα χρήσιμο in vitro εργαλείο για τη διερεύνηση των χυμικών ανοσολογικών αποκρίσεων στο μικροπεριβάλλον του καρκίνου του παχέος εντέρου και για την πιθανή ταυτοποίηση των αντιγόνων που σχετίζονται με τον όγκο.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Περιφερικό αίμα
Disease	Καρκίνωμα
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Χαρακτηριστικά

Age	84 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Στρογγυλά κύτταρα
Cell type	Β λεμφοβλάστη

Κύτταρα B-LCL-HROC68 | 302078

Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	B-LCL-HROC68 (αριθμός καταλόγου Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

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-HROC68 | 302078

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-HROC68 | 302078

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***: '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