

Κύτταρα B-LCL-HROC60 | 302004

Γενικές πληροφορίες

Description

Το B-LCL-HROC60 είναι μια αθανατοποιημένη με τον ιό Epstein-Barr (EBV) ανθρώπινη κυτταρική σειρά B λεμφοβλαστικών κυττάρων που δημιουργήθηκε από B κύτταρα που διεισδύουν σε όγκους (TiBc) που απομονώθηκαν από ένα πρωτοπαθές καρκίνωμα του παχέος εντέρου με την ονομασία HROC60. Ο γονικός όγκος προήλθε από έναν ενήλικα άνδρα ασθενή με καρκίνωμα του παχέος εντέρου στη δεξιά πλευρά, με μοριακό υποτύπο CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). 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 ανάπτυξης T και NK κυττάρων. Η μακροχρόνια επέκταση οδήγησε σε μια μονοκλωνική καλλιέργεια B-κυττάρων, όπως επιβεβαιώθηκε από την ανάλυση αναδιάταξης των γονιδίων βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης χρησιμοποιώντας τυποποιημένες δοκιμασίες κλωνικότητας.

Το B-LCL-HROC60 εκκρίνει ανοσοσφαιρίνη M (IgM) ως κυρίαρχο ισοτύπο, με σταθερή παραγωγή κατά τη διάρκεια της παρατεταμένης καλλιέργειας. Σε όλη την ευρύτερη σειρά των σειρών κυττάρων B που διεισδύουν στον όγκο και παράγονται από το καρκίνωμα του παχέος εντέρου, η έκκριση ανοσοσφαιρίνης περιορίστηκε σε ένα μόνο κύριο ισοτύπο ανά κλώνο και δεν παρατηρήθηκε αυθόρμητη ανάπτυξη απουσία εξωγενούς EBV, αποκλείοντας την λανθάνουσα μετασχηματισμό που προκαλείται από τον EBV in vivo. Ως μονοκλωνική, αντιγονικά έμπειρη σειρά που προέρχεται από TiBc από καρκίνωμα του παχέος εντέρου CIMP-H, το B-LCL-HROC60 παρέχει ένα σχετικό in vitro μοντέλο για τη διερεύνηση των χυμικών ανοσολογικών αποκρίσεων στο μικροπεριβάλλον του όγκου του παχέος εντέρου και για τον χαρακτηρισμό των λειτουργικών ιδιοτήτων των αντισωμάτων που προέρχονται από B-κύτταρα που διεισδύουν στον όγκο.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Περιφερικό αίμα

Disease Καρκίνωμα

Synonyms Bc HROC60, TiBcHROC60

Χαρακτηριστικά

Age 71 χρόνια

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Morphology Στρογγυλά κύτταρα

Cell type B λεμφοβλάστη

Κύτταρα B-LCL-HROC60 | 302004

Growth properties Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation B-LCL-HROC60 (αριθμός καταλόγου Cytion 302004)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UT

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 αδραντοποιημένο 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-HROC60 | 302004**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

Κανένα

**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-HROC60 | 302004**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*: '02:01:01, '11:01:01
B*: '44:02:01, '55:01:01
C*: '03:03:01, '05:01:01
DRB1*: '01:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01