Product sheet

B-LCL-HROC59-solut | 302073

Yleisiä tietoja

Description	B-LCL-HROC59 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on tuotettu primaarisesta kolorektaalisesta karsinoomasta HROC59 eristetyistä tuumoriin tunkeutuneista B-soluista (TiBc). Emotuumori resektoitiin aikuiselta miespotilaalta, jolla oli oikeanpuoleinen sporadinen kolorektaalinen karsinooma ja pitkälle edennyt sairaus. Tuore kasvainkudos hajotettiin mekaanisesti yksisoluisten suspensioiden saamiseksi, ja B-solut immortalisoitiin selektiivisesti in vitro käyttämällä EBV:tä sisältävää supernatanttia, joka oli peräisin B95/8-marmosettisolulinjasta, syklosporiini A:n läsnä ollessa T- ja NK-solujen lisääntymisen estämiseksi. Pitkäaikainen viljely johti monoklonaalisen B-solupopulaation vakaaseen kasvuun, kuten immunoglobuliinigeenien uudelleenjärjestelyanalyysi osoitti. B-LCL-HROC59 erittää immunoglobuliini G:tä (IgG) ainoana isotyyppinään, ja sen tuotanto on vakaata pitkittyneen viljelyn aikana. Solupohjaisissa sitoutumiskokeissa B-LCL-HROC59:stä peräisin oleva IgG osoitti vain vähäistä sitoutumista testattuihin allogeenisiin kolorektaalisyövän solulinjoihin verrattuna muihin TiBc:stä peräisin oleviin IgG:ihin, jotka osoittivat voimakkaampaa kasvainsolujen reaktiivisuutta. Viljelyn aloittamisen aikana ei havaittu merkkejä spontaanista B-solujen kasvusta ilman eksogeenistä EBV:tä, mikä viittaa siihen, että immortalisaatio tapahtui in vitro eikä se heijastanut latenttia EBV:n aiheuttamaa transformaatiota in vivo. Monoklonaalisena, antigeenikokeneenä tuumoriin tunkeutuvana B-solulinjana B-LCL-HROC59 tarjoaa määritellyn mallin kolorektaalisen syövän mikroympäristön humoraalisten immuunivasteiden tutkimiseen sekä tuumoriin liittyvien vasta-aineiden spesifisyyden ja toiminnallisten ominaisuuksien tutkimiseen.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	Syöpä
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Ominaisuudet

Age	76 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Pyöreät kennot
Cell type	B-lymfoblasti
Growth properties	Jousitus

B-LCL-HROC59-solut | 302073

Sääntelytiedot

Citation	B-LCL-HROC59 (Cytionin luettelonumero 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Biomolekyylitiedot

Surface antigens	CD19
Viruses	Muuntaja: EBV

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Subculturing	Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1 x 10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

B-LCL-HROC59-solut | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
HLA-alleelit	**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