Product sheet

B-LCL-HROC68-solut | 302078

Yleisiä tietoja

Description	B-LCL-HROC68 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on perustettu primaarisesta kolorektaalisesta karsinoomasta, nimeltään HROC68, eristetyistä tuumoriin tunkeutuneista B-soluista (TiBc). Emotuumori oli sporadinen kolorektaalinen karsinooma, joka oli resektoitu aikuiselta miespotilaalta, jolla oli pitkälle edennyt tauti. Tuore kasvainkudos hajotettiin mekaanisesti, ja B-soluja viljeltiin EBV:tä sisältävän supernatantissa, joka oli peräisin B95/8-marmosettisolulinjasta, yhdessä syklosporiini A:n kanssa T- ja NK-solujen kasvun estämiseksi. Pitkäaikainen viljely johti B-solujen monoklonaaliseen lisääntymiseen, mikä vahvistettiin immunoglobuliinigeenien uudelleenjärjestäytymisanalyysillä BIOMED-2-multiplex-PCR-protokollia käyttäen. Analyysi osoitti yhden hallitsevan uudelleenjärjestäytymismallin, joka oli yhdenmukainen kloonisen alkuperän kanssa. B-LCL-HROC68 erittää immunoglobuliini G:tä (IgG) ainoana isotyyppinään, ja sen tuotanto on vakaata pitkittyneen viljelyn aikana. Solupohjaisessa ELISA-seulonnassa allogeenisia kolorektaalisyöpäsolulinjoja (HROC24, HROC46 ja HCT116) vastaan B-LCL-HROC68:sta peräisin oleva IgG osoitti mitattavissa olevaa tuumorisolujen sitoutumista, ja voimakkain signaali havaittiin HCT116-soluja vastaan. Myöhempi virtaussytometrinen validointi osoitti kuitenkin suhteellisen heikon sitoutumisaffiniteetin verrattuna muihin TiBc:stä peräisin oleviin IgG:ihin. Nämä havainnot osoittavat, että B-LCL-HROC68 edustaa monoklonaalista, antigeenikokemusta omaavaa tuumoriin tunkeutuvaa B-solulinjaa, joka kykenee tuottamaan toiminnallista IgG:tä, jolla on havaittavissa oleva tuumorisolujen reaktiivisuus. Se tarjoaa hyödyllisen in vitro -työkalun kolorektaalisen karsinooman mikroympäristön humoraalisten immuunivasteiden tutkimiseen ja tuumoriin liittyvien antigeenien mahdolliseen tunnistamiseen.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	Syöpä
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Ominaisuudet

Age	84 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Pyöreät kennot
Cell type	B-lymfoblasti

B-LCL-HROC68-solut | 302078

Growth properties	Jousitus

Sääntelytiedot

Citation	B-LCL-HROC68 (Cytionin luettelonumero 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

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-HROC68-solut | 302078

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***: '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