

B-LCL-HROC57-solut | 302072**Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC57 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on perustettu primaarisesta kolorektaalaisesta karsinoomasta eristetyistä tuumoriin tunkeutuneista B-soluista (TiBc), nimeltään HROC57. Emotuumori oli peräisin aikuiselta miespotilaalta, jolla oli oikeanpuoleinen kolorektaalinen karsinooma, jossa oli neuroendokriininen erilaistuminen ja joka oli edennyt pitkälle. 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 kasvun estämiseksi. Pitkäaikainen laajentaminen tuotti stabiilin monoklonaalisen B-soluviljelmän, mikä vahvistettiin immunoglobuliinigeenien uudelleenjärjestelyanalyyseillä.

B-LCL-HROC57 erittää immunoglobuliini G:tä (IgG) ainoana isotyyppinään, ja tuotanto on vakaata pitkittyneen viljelyn aikana. Solupohjaisissa sitoutumistesteissä B-LCL-HROC57:stä peräisin oleva IgG osoittaa mitattavissa olevaa sitoutumista allogeenisiin kolorektaalisyöpäsolulinjoihin, ja sen sitoutumisintensiiteetti on keskitasoinen verrattuna muihin TiBc:stä peräisin oleviin IgG:ihin. Immunofluoresenssianalyytit osoittavat pääasiassa solunsisäisen kohteen tunnistamisen kasvainsoluissa. Viljelyn aloittamisen aikana ei tapahdu spontaania B-solujen kasvua ilman eksogeenistä EBV:tä, mikä sulkee pois latentti EBV:n aiheuttaman transformaation in vivo. Monoklonaalisena, antigeenikokemusta omaavana tuumoriin tunkeutuvana B-solulinjana B-LCL-HROC57 edustaa määriteltyä mallia kolorektaalisen karsinooman humoraalisen immuunivasteen tutkimiseen ja paikallisesti laajentuneiden B-solukloonien tunnistamien tuumoriin liittyvien antigeenien tunnistamiseen.

Organism Ihminen**Tissue** Perifeerinen veri**Disease** Syöpä**Synonyms** Bc HROC57, TiBcHROC57**Ominaisuudet****Age** 43 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti

B-LCL-HROC57-solut | 302072

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation B-LCL-HROC57 (Cytionin luettelonumero 302072)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UR

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 1×10^5 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-HROC57-solut | 302072

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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.

B-LCL-HROC57-solut | 302072

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

A*: '01:01:01, '02:01:01

B*: '08:01:01, '27:01:01

C*: '06:02:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '07:01:01

DQA1*: '02:01:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '03:03:02

DPB1*: '02:01:02, '04:01:01

E: '01:01:01, '01:03:02