Product sheet

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 kolorektaalisesta 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 uudelleenjärjestelyanalyysillä. 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 sitoutumisintensiteetti on keskitasoinen verrattuna muihin TiBc:stä peräisin oleviin IgG:ihin. Immunofluoresenssianalyysit 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

Sääntelytiedot

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 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-HROC57-solut | 302072

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***: '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