

B-LCL-HROC60-solut | 302004**Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC60 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on perustettu primaarisesta kolorektaalaisesta karsinoomasta eristetyistä tuumoriin tunkeutuneista B-soluista (TiBc), nimeltään HROC60. Alkuperäinen kasvain oli peräisin aikuiselta miespotilaalta, jolla oli oikeanpuoleinen kolorektaalikarsinooma, jonka molekyylylityppi oli CpG-saarekkeen metylaattorifenotyypin korkea (CIMP-H). 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 laajentuminen johti monoklonaaliseen B-soluviljelmään, mikä vahvistettiin immunoglobuliinin raskaan ja kevyen ketjun geenien uudelleenjärjestelyanalyysillä käyttäen standardoituja klonalisuusmäärytyksiä.

B-LCL-HROC60 erittää immunoglobuliini M:ää (IgM) hallitsevana isotyypinä, ja sen tuotanto on vakaata pitkittyneessä viljelmässä. Laajemmassa sarjassa kolorektaalaisesta karsinoomasta tuotettuja tuumoriin tunkeutuvia B-solulinjoja immunoglobuliinin erityis rajoittui yhteen pääisotyyppiin kloonina kohti, eikä spontaania kasvua tapahtunut ilman eksogeenistä EBV:tä, mikä sulkee pois latentti in vivo EBV-ohjattu transformaatio. Monoklonaalisena, antigeenikokemusta omaavana TiBc-johdannaisena linjana CIMP-H-kolorektaalaisesta karsinoomasta B-LCL-HROC60 tarjoaa relevantin in vitro -mallin kolorektaalisesta kasvaimen mikroympäristön humoraalisten immuunivasteiden tutkimiseen ja kasvaimen tunkeutuvien B-soluista peräisin olevien vasta-aineiden toiminnallisten ominaisuuksien karakterisointiin.

Organism Ihminen**Tissue** Perifeerinen veri**Disease** Syöpä**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Ominaisuudet****Age** 71 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti**Growth properties** Jousitus

B-LCL-HROC60-solut | 302004**Säätelytiedot****Citation** B-LCL-HROC60 (Cytionin luettelonumero 302004)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UT**Biomolekyyli tiedot****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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

B-LCL-HROC60-solut | 302004

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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-prosenttisellä 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 $300 \times g$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

B-LCL-HROC60-solut | 302004

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

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

HLA-alleelit

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