

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 NaHCO ₃ (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 °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-HROC60-solut | 302004

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä 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

Pitkäaikaisäilytystä 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*: '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