Product sheet

B-LCL-HROC59 sejtek | 302073

Általános információk

Description	A B-LCL-HROC59 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által immortálisított humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC59 nevű primer kolorektális karcinómából izolált tumorbehatoló B-sejtekből (TiBc) hoztak létre. A szülői tumort egy jobb oldali sporadikus kolorektális karcinómában szenvedő, előrehaladott stádiumú felnőtt férfi betegtől reszekálták. A friss tumor szövetet mechanikusan szétválasztották, hogy egysejtű szuszpenziót kapjanak, és a B sejteket szelektíven immortálisították in vitro, EBV-t tartalmazó felülúszó folyadékot használva, amelyet a B95/8 marmoset sejtvonalból nyertek ki, ciklosporin A jelenlétében, hogy elnyomják a T- és NK-sejtek szaporodását. A hosszú távú tenyésztés eredményeként stabil monoklonális B-sejt populáció jött létre, amit az immunglobulin gén átrendeződés elemzése is igazolt. A B-LCL-HROC59 kizárólag immunglobulin G (IgG) izotípust szekretál, amelynek termelése hosszan tartó tenyésztés során is stabil marad. Sejtalapú kötődési vizsgálatokban a B-LCL-HROC59-ből származó IgG csak minimális kötődést mutatott a vizsgált allogén kolorektális karcinóma sejtvonalakhoz képest, szemben más TiBc-ből származó IgG-kkel, amelyek erősebb tumorsejt-reaktivitást mutattak. A tenyésztés során exogén EBV hiányában nem figyeltek meg spontán B-sejt-szaporodást, ami arra utal, hogy az immortalizáció in vitro történt, és nem az in vivo EBV által kiváltott látens transzformációt tükrözi. Monoklonális, antigénnel tapasztalt tumorba beszivárgó B-sejt vonalként a B-LCL-HROC59 meghatározott modellt nyújt a kolorektális rák mikrokörnyezetében zajló humorális immunválaszok tanulmányozásához, valamint a tumorral kapcsolatos antitestek specifitásának és funkcionális tulajdonságainak vizsgálatához.
Organism	Emberi
Tissue	Perifériás vér
Disease	Karcinóma
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Jellemzők

Age	76 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Kerek cellák
Cell type	B lymphoblast
Growth properties	Felfüggesztés

B-LCL-HROC59 sejtek | 302073

Szabályozási adatok

Citation	B-LCL-HROC59 (Cytion katalógusszám: 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Biomolekuláris adatok

Surface antigens	CD19
Viruses	Transzformáns: EBV

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki
Subculturing	A lombikban lévő sejtszuszpenziót óvatosan homogenizálja fel-le pipettázással, majd vegyen egy reprezentatív mintát a sejtsűrűség ml-enkénti meghatározásához. A szuszpenziót hígítsa friss tenyésztőközeggel 1 x 10^5 sejt/ml sejtkoncentráció eléréséig, majd az így beállított szuszpenziót új lombikokba osztva továbbtenyésztse.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

B-LCL-HROC59 sejtek | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02