Product sheet

B-LCL-HROC68 sejtek | 302078

Általános információk

Description	A B-LCL-HROC68 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által halhatatlanná tett humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC68 nevű primer kolorektális karcinómából izolált tumorbehatoló B-sejtekből (TiBc) hoztak létre. A szülői tumor egy sporadikus típusú kolorektális karcinóma volt, amelyet egy előrehaladott stádiumú betegségben szenvedő felnőtt férfi páciensből reszekáltak. A friss tumor szövetet mechanikusan szétválasztották, és a B sejteket EBV-t tartalmazó felülúszó folyadék jelenlétében tenyésztették, amely a B95/8 marmoset sejtvonalból származott, ciklosporin A-val együtt, hogy elnyomják a T és NK sejtek növekedését. A hosszú távú tenyésztés a B-sejtek monoklonális szaporodását eredményezte, amit a BIOMED-2 multiplex PCR protokollok alkalmazásával végzett immunglobulin génátrendeződés-elemzés is megerősített, és amely egyetlen domináns átrendeződési mintát mutatott, ami összhangban áll a klónális eredettel. A B-LCL-HROC68 kizárólagos izotípusként immunglobulin G-t (IgG) szekretál, amelynek termelése a hosszan tartó tenyésztés során stabil marad. Az allogén kolorektális rákos sejtvonalak (HROC24, HROC46 és HCT116) elleni sejtalapú ELISA szűrés során a B-LCL-HROC68-ból származó IgG mérhető tumorsejt-kötődést mutatott, a legerősebb jel a HCT116 sejtek ellen volt megfigyelhető. Az ezt követő áramlási citometriás validálás azonban más TiBc-ből származó IgG-khez képest viszonylag gyenge kötődési affinitást mutatott. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a B-LCL-HROC68 egy monoklonális, antigénnel tapasztalt, tumorba behatoló B-sejtvonal, amely képes funkcionális IgG termelésére, amelynek tumorsejt-reaktivitása kimutatható, és amely hasznos in vitro eszköz a kolorektális karcinóma mikrokörnyezetén belüli humorális immunválaszok vizsgálatához és a tumorral kapcsolatos antigének potenciális azonosításához.
Organism	Emberi
Tissue	Perifériás vér
Disease	Karcinóma
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Jellemzők

Age	84 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Kerek cellák
Cell type	B lymphoblast

B-LCL-HROC68 sejtek | 302078

Growth properties	Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation	B-LCL-HROC68 (Cytion katalógusszám: 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

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-HROC68 sejtek | 302078

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.

B-LCL-HROC68 sejtek | 302078

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***: '02:01:01, '29:02:01 **B***: '13:02:01, '44:03:01 **C***: '06:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01 **DPB1***: '01:01:01, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03