

B-LCL-HROC68 sejtek | 302078**Általános információk****Description**

A B-LCL-HROC68 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által immortálisított humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC68 nevű primer kolorektális karcinómából izolált tumor-infiltráló 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 génátrendeződs-elemzés is megerősített, és amely egyetlen domináns átrendeződsi 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 ráksejtvonalak (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 sejtekkel szemben 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 tumorról asszociált 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 sejtuszpenziót óvatosan homogenizálja fel-le pipettázással, majd vegyen egy reprezentatív mintát a sejtsűrűség ml-enkénti meghatározásához. A szuszpenziót hígítsa friss tenyésztőközeggel 1×10^5 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 sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 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 sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat 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

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat 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 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

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 sejt kultúrákat 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