Product sheet

B-LCL-HROC57 sejtek | 302072

Általános információk

Description	A B-LCL-HROC57 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által halhatatlanná tett humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet HROC57 nevű primer kolorektális karcinómából izolált tumorbehatoló B-sejtekből (TiBc) hoztak létre. Az anyasejt tumor egy felnőtt férfi betegtől származik, aki jobb oldali kolorektális karcinómában szenvedett, amely neuroendokrin differenciálódást és előrehaladott stádiumot mutatott. A friss tumor szövetet mechanikusan szétválasztották, hogy egysejtű szuszpenziót kapjanak, és a B sejteket szelektíven immortalizálták in vitro EBV-t tartalmazó felülúszóval, amelyet a B95/8 marmoset sejtvonalból nyertek ki ciklosporin A jelenlétében, hogy gátolják a T- és NK-sejtek növekedését. A hosszú távú tenyésztés stabil monoklonális B-sejt tenyészetet eredményezett, amit az immunglobulin génátrendeződés elemzése is megerősített. A B-LCL-HROC57 kizárólagos izotípusaként immunglobulin G-t (IgG) szekretál, amelynek termelése hosszabb tenyésztés során is stabil marad. Sejtalapú kötődési vizsgálatokban a B-LCL-HROC57-ből származó IgG mérhető kötődést mutat allogén kolorektális karcinóma sejtvonalakhoz, más TiBc-ből származó IgG-khez képest közepes kötődési intenzitással. Az immunfluoreszcencia-elemzések elsősorban intracelluláris célfelismerést jeleznek a tumorsejtekben. A tenyésztés során exogén EBV hiányában nem fordul elő spontán B-sejt-növekedés, ami kizárja a látens EBV-vezérelt transzformációt in vivo. Monoklonális, antigénnel tapasztalt tumor-infiltráló B-sejtvonalaként a B-LCL-HROC57 egy meghatározott modellt képvisel a kolorektális karcinóma humorális immunválaszainak vizsgálatához és a lokálisan expandált B-sejtklónok által felismert tumorral asszociált antigének azonosításához.
Organism	Emberi
Tissue	Perifériás vér
Disease	Karcinóma
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Jellemzők

Age	43 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Kerek cellák
Cell type	B lymphoblast
Growth properties	Felfüggesztés

Product sheet

B-LCL-HROC57 sejtek | 302072

Szabályozási adatok

Citation	B-LCL-HROC57 (Cytion katalógusszám: 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR

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-HROC57 sejtek | 302072

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-HROC57 sejtek | 302072

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***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02