

B-LCL-HROC59 ląstelės | 302073**Bendra informacija****Description**

B-LCL-HROC59 yra Epstein-Barr viruso (EBV) nemirtinga žmogaus B limfoblastoidų ląstelių linija, sukurta iš naviko infiltruojančių B ląstelių (TiBc), izoliuotų iš pirminio kolorektalinio karcinomo, pavadinto HROC59. Pirminis navikas buvo pašalintas suaugusiam vyrui, sergančiam dešiniojo pusės sporadiniu kolorektaliniu karcinomu ir pažengusia liga. Šviežias naviko audinys buvo mechaniniu būdu suskaidytas, kad būtų gautas vienaląstis suspensijas, o B ląstelės buvo selektyviai nemirtingos in vitro, naudojant EBV turintį supernatantą, gautą iš B95/8 marmoset ląstelių linijos, esant ciklosporinui A, siekiant slopinti T ir NK ląstelių plitimą. Ilgalais kultivavimas lėmė stabilų monokloninių B ląstelių populiacijos augimą, kaip parodė imunoglobulino geno pertvarkymo analizė.

B-LCL-HROC59 išskiria imunoglobuliną G (IgG) kaip išskirtinį izotipą, kurio gamyba yra stabili ilgalaikės kultūros metu. Ląstelių pagrinduose rišimosi tyrimuose IgG, gautas iš B-LCL-HROC59, parodė tik minimalų rišimąsi su tiriamomis alogeninėmis kolorektalinės karcinomos ląstelių linijomis, palyginti su kitais TiBc gautais IgG, kurie parodė stipresnį naviko ląstelių reaktyvumą. Kultūros sukūrimo metu, nesant egzogeninio EBV, nebuvo pastebėta spontaniško B ląstelių augimo požymių, o tai rodo, kad nemirtingumas atsirado in vitro, o ne atspindėjo latentinę EBV sukeltą transformaciją in vivo. Kaip monokloninė, antigeną patyrusi naviką infiltruojanti B ląstelių linija, B-LCL-HROC59 suteikia apibrėžtą modelį humorinių imuninių atsakų kolorektalinio vėžio mikroaplinkoje tyrimui ir navikų susijusių antikūnų specifiškumo bei funkcinių savybių tyrimui.

Organism Žmogus**Tissue** Periferinis kraujas**Disease** Karcinoma**Synonyms** Bc HROC59, TiBcHROC59**Charakteristikos****Age** 76 metai**Gender** Vyras**Ethnicity** Kaukazičiai**Morphology** Apvalios ląstelės**Cell type** B limfoblastas**Growth properties** Pakaba

B-LCL-HROC59 ląstelės | 302073**Reguliavimo duomenys****Citation** B-LCL-HROC59 (Cytion katalogo numeris 302073)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7US**Biomolekuliniai duomenys****Surface antigens** CD19**Viruses** Transformantas: EBV**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS**Subculturing** Švelniai homogenizuokite kolboje esantį ląstelių suspensiją, pipetuodami aukštyn ir žemyn, tada paimkite reprezentatyvią mėginį, kad nustatytumėte ląstelių tankį ml. Praskieskite suspensiją, kad pasiektumėte 1×10^5 ląstelių/ml koncentraciją šviežia kultūrinė terpė, ir padalinkite pakoreguotą suspensiją į naujas kolbas tolesniam auginimui.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

B-LCL-HROC59 ląstelės | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

B-LCL-HROC59 ląstelės | 302073

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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