Product sheet

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 karcinoma 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. Ilgalaikis 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 ilgalaikio kultivavimo 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	Kaukaziečių
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 x 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 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

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.

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 skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

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