

B-LCL-HROC69 ląstelės | 300864**Bendra informacija****Description**

B-LCL-HROC69 yra Epstein-Barr viruso (EBV) nemirtinga B limfoblastoidų ląstelių linija, sukurta iš naviko infiltruojančių B ląstelių (TiBc), izoliuotų iš pirminio kolorektalinio karcinomos mėginio, pavadinto HROC69. Pirminis navikas buvo kilęs iš suaugusio vyro, sergančio dešiniojo pusės kolorektaliniu karcinoma, kuris buvo įprasto sporadinio tipo ir pažengusios stadijos. B ląstelės buvo izoliuotos iš šviežiai pašalinto naviko audinio ir nemirtingos ex vivo naudojant EBV gaminančios B95/8 marmoset ląstelių linijos supernatanto buvimą ciklosporino A akivaizdoje, siekiant slopinti T ir NK ląstelių augimą. EBV transformuotų B ląstelių klonų augimas paprastai vyko per kelias savaites, o klonumas buvo patvirtintas imunoglobulino sunkiųjų ir lengvųjų grandžių genų pertvarkymo analize, naudojant BIOMED-2 daugialypės PCR protokolus.

B-LCL-HROC69 išskiria imunoglobuliną A (IgA), kaip nustatyta izotipui būdingais ELISA ilgalaikės kultūros supernatanto tyrimais. Priešingai nei kelios lygiagrečiai sukurtos IgG gaminančios TiBc linijos, IgA, gautas iš HROC69, nebuvo toliau tiriamas dėl naviko ląstelių jungimosi pradiniuose funkciniuose atrankos tyrimuose. Svarbu pažymėti, kad be egzogeninio EBV nebuvo spontaniško B ląstelių kultūrų augimo, o tai rodo, kad nemirtingumas yra in vitro reiškinytis, o ne latentinės EBV infekcijos in vivo pasekmė. Todėl B-LCL-HROC69 yra monokloninis, antigeną patyręs naviką infiltruojantis B ląstelių modelis, tinkamas tirti humoralinius imuninius atsakus kolorektalinės karcinomos mikroaplinkoje ir potencialiai identifikuoti naviką asocijuotus antigenus, kuriuos atpažįsta lokaliai išsiplėtę B ląstelių klonai.

Organism Žmogus**Tissue** Periferinis kraujas**Disease** Karcinoma**Synonyms** B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69**Charakteristikos****Age** 62 metai**Gender** Vyras**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** Apvalios ląstelės**Cell type** B limfoblastas**Growth properties** Pakaba

B-LCL-HROC69 ląstelės | 300864**Reguliavimo duomenys****Citation** B-LCL-HROC69 (Cytion katalogo numeris 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**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-HROC69 ląstelės | 300864

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 perkelti 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

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 perkelti 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 perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

B-LCL-HROC69 ląstelės | 300864

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.