Product sheet

B-LCL-HROC68 ląstelės | 302078

Bendra informacija

Description	B-LCL-HROC68 yra Epstein-Barr viruso (EBV) nemirtinga žmogaus B limfoblastoidų ląstelių linija, sukurta iš naviko infiltruojančių B ląstelių (TiBc), izoliuotų iš pirminio kolorektalinio karcinomo, pavadinto HROC68. Pirminis navikas buvo sporadinio tipo kolorektalinis karcinomas, pašalintas iš suaugusio vyro, sergančio pažengusia ligos stadija. Šviežias naviko audinys buvo mechaniniu būdu suskaidytas, o B ląstelės buvo kultivuojamos EBV turinčio supernatanto, gauto iš B95/8 marmosetų ląstelių linijos, kartu su ciklosporinu A, siekiant slopinti T ir NK ląstelių augimą. Ilgalaikis kultivavimas lėmė monokloninę B ląstelių ekspansiją, patvirtintą imunoglobulino geno pertvarkymo analize, naudojant BIOMED-2 daugialypės PCR protokolus, parodančius vieną dominuojantį pertvarkymo modelį, atitinkantį kloninę kilmę. B-LCL-HROC68 išskiria imunoglobuliną G (IgG) kaip išskirtinį izotipą, kurio gamyba yra stabili per ilgą kultūravimo laikotarpį. Ląstelių pagrindu atliktame ELISA skrininge prieš alogenines kolorektalinio vėžio ląstelių linijas (HROC24, HROC46 ir HCT116) iš B-LCL-HROC68 gautas IgG parodė matomą naviko ląstelių prisijungimą, stipriausias signalas buvo pastebėtas prieš HCT116 ląsteles. Tačiau vėlesnis srauto citometrinis patvirtinimas parodė palyginti silpną prisijungimo afinitetą, palyginti su kitais TiBc gautais IgG. Šie rezultatai rodo, kad B-LCL-HROC68 yra monokloninė, antigeną patyrusi naviką infiltruojanti B ląstelių linija, galinti gaminti funkcionalų IgG su aptinkamu naviko ląstelių reaktyvumu, suteikianti naudingą in vitro priemonę humorinių imuninių atsakų tyrimui kolorektalinės karcinomos mikroaplinkoje ir potencialiam navikų antigenų identifikavimui.
Organism	Žmogus
Tissue	Periferinis kraujas
Disease	Karcinoma
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Charakteristikos

Age	84 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Apvalios ląstelės
Cell type	B limfoblastas
Growth properties	Pakaba

B-LCL-HROC68 ląstelės | 302078

Reguliavimo duomenys

Citation	B-LCL-HROC68 (Cytion katalogo numeris 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

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-HROC68 ląstelės | 302078

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.

B-LCL-HROC68 ląstelės | 302078

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***: '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