

B-LCL-HROC60 ląstelės | 302004**Bendra informacija****Description**

B-LCL-HROC60 yra Epstein-Barr viruso (EBV) nemirtinga žmogaus B limfoblastoidinė ląstelių linija, sukurta iš naviko infiltruojančių B ląstelių (TiBc), izoliuotų iš pirminio kolorektalinio karcinomo, pavadinto HROC60. Pirminis navikas buvo paimtas iš suaugusio vyro, sergančio dešiniojo pusės kolorektaliniu karcinoma, turinčiu CpG salos metilatoriaus fenotipo-aukšto (CIMP-H) molekulinį potipį. Šviežias naviko audinys buvo mechaniniu būdu suskaidytas, kad būtų gautas vienos ląstelės suspensija, 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 augimą. Ilgalaikis augimas davė monokloninę B ląstelių kultūrą, kaip patvirtino imunoglobulino sunkiųjų ir lengvųjų grandžių genų pertvarkymo analizė, naudojant standartizuotus klonalumo tyrimus.

B-LCL-HROC60 išskiria imunoglobuliną M (IgM) kaip dominuojantį izotipą, kurio gamyba yra stabili per ilgą kultūrą. Platesnėje serijoje naviką infiltruojančių B ląstelių linijų, gautų iš kolorektalinio karcinomo, imunoglobulino sekrecija buvo apribota iki vieno pagrindinio izotipo vienam klonui, ir nesusidarė spontaniškas augimas be egzogeninio EBV, išskyrus latentinę in vivo EBV sukeltą transformaciją. Kaip monokloninė, antigeną patyrusi TiBc kilusi linija iš CIMP-H kolorektalinės karcinomos, B-LCL-HROC60 suteikia atitinkamą in vitro modelį humorinių imuninių atsakų kolorektalinės naviko mikroaplinkoje tyrimui ir naviką infiltruojančių B ląstelių kilusių antikūnų funkcinų savybių charakterizavimui.

Organism Žmogus**Tissue** Periferinis kraujas**Disease** Karcinoma**Synonyms** Bc HROC60, TiBcHROC60**Charakteristikos****Age** 71 metai**Gender** Vyras**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** Apvalios ląstelės**Cell type** B limfoblastas**Growth properties** Pakaba

B-LCL-HROC60 ląstelės | 302004**Reguliavimo duomenys**

Citation	B-LCL-HROC60 (Cytion katalogo numeris 302004)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UT

Biomolekuliniai duomenys

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformantas: EBV

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (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-HROC60 ląstelės | 302004

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

B-LCL-HROC60 ląstelės | 302004

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*: '02:01:01, '11:01:01
B*: '44:02:01, '55:01:01
C*: '03:03:01, '05:01:01
DRB1*: '01:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01