Product sheet

B-LCL-HROC68 šūnas | 302078

Vispārīga informācija

Description	B-LCL-HROC68 ir Epšteina-Barra vīrusa (EBV) imortalizēta cilvēka B limfoblastoīdu šūnu līnija, kas izveidota no audzēja infiltrējošām B šūnām (TiBc), kas izdalītas no primārā kolorektālā karcinoma, kas apzīmēts kā HROC68. Vecāku audzējs bija sporādiska tipa kolorektālais karcinoms, kas izgriezts no pieaugušam vīriešu pacientam ar slimības progresējošu stadiju. Svaigs audzēja audi tika mehāniski disociēti, un B šūnas tika kultivētas EBV saturoša supernatanta klātbūtnē, kas iegūts no B95/8 marmoset šūnu līnijas, kopā ar ciklosporīnu A, lai nomāktu T un NK šūnu izaugšanu. Ilgtermiņa kultivēšana izraisīja B šūnu monoklonālu izplatīšanos, ko apstiprināja imūnglobulīna gēna pārkārtojuma analīze, izmantojot BIOMED-2 multipleksa PCR protokolus, kas parādīja vienu dominējošu pārkārtojuma modeli, kas atbilst klonālajai izcelsmei. B-LCL-HROC68 izdalīja imūnglobulīnu G (IgG) kā savu ekskluzīvo izotipu, ar stabilu ražošanu ilgstošas kultivēšanas laikā. Šūnu bāzētā ELISA skrīningā pret alogēnām kolorektālā vēža šūnu līnijām (HROC24, HROC46 un HCT116) no B-LCL-HROC68 iegūtais IgG demonstrēja izmērāmu saistīšanos ar audzēja šūnām, visstiprākais signāls tika novērots pret HCT116 šūnām. Tomēr turpmāka plūsmas citometrijas validācija norādīja salīdzinoši vāju saistīšanās afinitāti salīdzinājumā ar citiem no TiBc iegūtiem IgG. Šie rezultāti liecina, ka B-LCL-HROC68 ir monoklonāla, antigēnu pieredzējusi audzēju infiltrējoša B šūnu līnija, kas spēj ražot funkcionālu IgG ar nosakāmu audzēju šūnu reaktivitāti, nodrošinot noderīgu in vitro instrumentu humoro imūnreakciju izpētei kolorektālā karcinoma mikroapvidū un potenciālai audzēju saistītu antigēnu identifikācijai.
Organism	Cilvēks
Tissue	Perifērās asinis
Disease	Karcinoma
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Raksturojums

Age	84 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Apaļas šūnas
Cell type	B limfoblasts
Growth properties	Apturēšana

B-LCL-HROC68 šūnas | 302078

Normatīvie dati

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

Biomolekulārie dati

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformants: EBV

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS
Subculturing	Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1 x 10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

B-LCL-HROC68 šūnas | 302078

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

B-LCL-HROC68 šūnas | 302078

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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