Product sheet

B-LCL-HROC57 šūnas | 302072

Vispārīga informācija

Description	B-LCL-HROC57 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 HROC57. Mātes audzējs cēlies no pieaugušā vīrieša pacienta ar labās puses kolorektālo karcinomu, kam raksturīga neiroendokrīnā diferenciācija un slimības progresējošs stadijs. Svaigs audzēja audi tika mehāniski disociēti, lai iegūtu vienšūnu suspensijas, un B šūnas tika selektīvi imortalizētas in vitro, izmantojot EBV saturošu supernatantu, kas iegūts no B95/8 marmoset šūnu līnijas, klātbūtnē ciklosporīna A, lai inhibētu T un NK šūnu izaugsmi. Ilgtermiņa ekspansija deva stabilu monoklonālo B šūnu kultūru, ko apstiprināja imūnglobulīna gēna pārkārtojuma analīze. B-LCL-HROC57 izdalīja imūnglobulīnu G (IgG) kā ekskluzīvu izotipu, ar stabilu ražošanu ilgstošas kultivēšanas laikā. Šūnu saistīšanās testos IgG, kas iegūts no B-LCL-HROC57, parāda izmērāmu saistīšanos ar alogēnām kolorektālās karcinomas šūnu līnijām, ar vidēju saistīšanās intensitāti salīdzinājumā ar citiem TiBc iegūtiem IgG. Imunofluorescences analīzes liecina par galvenokārt intracelulāru mērķa atpazīšanu audzēja šūnās. Kultūras izveides laikā bez eksogēna EBV nav novērota spontāna B šūnu izaugsme, izslēdzot latentas EBV izraisītas transformācijas in vivo. Kā monoklonāla, antigēnu pieredzējusi audzēju infiltrējoša B šūnu līnija, B-LCL-HROC57 ir definēts modelis kolorektālās karcinomas humorālās imūnreakcijas izpētei un audzēju asociēto antigēnu identificēšanai, kurus atpazīst lokāli izplatīti B šūnu kloni.
Organism	Cilvēks
Tissue	Perifērās asinis
Disease	Karcinoma
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Raksturojums

Age	43 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Apaļas šūnas
Cell type	B limfoblasts
Growth properties	Apturēšana

B-LCL-HROC57 šūnas | 302072

Normatīvie dati

Citation	B-LCL-HROC57 (Cytion kataloga numurs 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR

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-HROC57 šūnas | 302072

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-HROC57 šūnas | 302072

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***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '08:01:01, '27:01:01 **C***: '06:02:01, '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01, '03:03:02 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03:02