

B-LCL-HROC60 šūnas | 302004**Vispārīga informācija****Description**

B-LCL-HROC60 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 HROC60. Sākotnējais audzējs cēlies no pieaugušam vīrieša pacienta ar labās puses kolorektālo karcinomu ar CpG salu metilatoru fenotipa augsto (CIMP-H) molekulāro apakštipu. Svaigs audzēja audi tika mehāniski disociēti, lai iegūtu vienzūnu 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 nomāktu T un NK šūnu izaugšanu. Ilgtermiņa ekspansija rezultējās monoklonālu B šūnu kultūrā, ko apstiprināja imūnglobulīna smagās un vieglas ķēdes gēnu pārkārtojuma analīze, izmantojot standartizētus klonalitātes testus.

B-LCL-HROC60 izdalīja imūnglobulīnu M (IgM) kā dominējošo izotipu, ar stabilu ražošanu ilgstošā kultūrā. Plašākā sērijā audzēju infiltrējošo B šūnu līniju, kas radītas no kolorektālā karcinoma, imūnglobulīna izdalīšanās bija ierobežota līdz vienam galvenajam izotipam uz klonu, un spontāna izaugsme nenotika bez eksogēna EBV, izslēdzot latentas in vivo EBV izraisītas transformācijas. Kā monoklonāla, antigēnu pieredzējusi TiBc atvasināta līnija no CIMP-H kolorektālās karcinomas, B-LCL-HROC60 nodrošina atbilstošu in vitro modeli, lai pētītu humoro imūno reakciju kolorektālās audzējas mikroapvidū un raksturotu audzēju infiltrējošo B šūnu atvasināto antivielu funkcionālās īpašības.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Karcinoma

Synonyms

Bc HROC60, TiBcHROC60

Raksturojums**Age**

71 gads

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Apaļas šūnas

Cell type

B limfoblasts

Growth properties

Apturēšana

B-LCL-HROC60 šūnas | 302004**Normatīvie dati**

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

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 NaHCO ₃ (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 1×10^5 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-HROC60 šūnas | 302004

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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-HROC60 šūnas | 302004

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

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, '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