Product sheet

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078

Informacje ogólne

Description	B-LCL-HROC68 to linia komórek limfoblastycznych B człowieka, unieśmiertelniona wirusem Epsteina-Barra (EBV), utworzona z komórek B infiltrujących nowotwór (TiBc) izolowanych z pierwotnego raka jelita grubego oznaczonego jako HROC68. Nowotwór macierzysty był rakiem jelita grubego typu sporadycznego, wycięty u dorosłego mężczyzny z zaawansowaną chorobą. Świeżą tkankę nowotworową poddano mechanicznej dysocjacji, a komórki B hodowano w obecności supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmozety, wraz z cyklosporyną A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Długotrwała hodowla spowodowała monoklonalną ekspansję komórek B, co potwierdzono analizą rearanżacji genów immunoglobulin przy użyciu protokołów wielokrotnej reakcji łańcuchowej polimerazy BIOMED-2, wykazując pojedynczy dominujący wzór rearanżacji zgodny z pochodzeniem klonalnym. B-LCL-HROC68 wydziela immunoglobulinę G (IgG) jako swój wyłączny izotyp, ze stabilną produkcją podczas długotrwałej hodowli. W badaniach przesiewowych ELISA opartych na komórkach przeciwko allogenicznym liniom komórkowym raka jelita grubego (HROC24, HROC46 i HCT116) IgG pochodzące z B-LCL-HROC68 wykazały mierzalne wiązanie komórek nowotworowych, przy czym najsilniejszy sygnał zaobserwowano w przypadku komórek HCT116. Jednak późniejsza walidacja metodą cytometrii przepływowej wykazała stosunkowo słabe powinowactwo wiązania w porównaniu z innymi IgG pochodzącymi z TiBc. Wyniki te wskazują, że B-LCL-HROC68 stanowi monoklonalną, doświadczoną antygenowo linię komórek B infiltrujących nowotwór, zdolną do produkcji funkcjonalnego IgG o wykrywalnej reaktywności komórek nowotworowych, stanowiąc użyteczne narzędzie in vitro do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych w mikrośrodowisku raka jelita grubego oraz do potencjalnej identyfikacji antygenów związanych z nowotworem.
Organism	Człowiek
Tissue	Krew obwodowa
Disease	Rak
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Charakterystyka

Age	84 lata
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Okrągłe komórki
Cell type	Limfoblast B

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078

Growth properties	Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation	B-LCL-HROC68 (numer katalogowy Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU
Depositor	M. Linnebacher

Dane biomolekularne

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie
Subculturing	Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1 x 10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-HROC68 | 302078

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Allele HLA	**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