Product sheet

Komórki B-LCL-HROC57 | 302072

Informacje ogólne

Description	B-LCL-HROC57 to nieśmiertelna linia komórek limfoblastycznych B człowieka, uodporniona wirusem Epsteina-Barra (EBV), utworzona z komórek B infiltrujących nowotwór (TiBc) izolowanych z pierwotnego raka jelita grubego oznaczonego jako HROC57. Nowotwór macierzysty pochodził od dorosłego mężczyzny z rakiem jelita grubego po prawej stronie, wykazującym różnicowanie neuroendokrynne i zaawansowanym stadium choroby. Świeżą tkankę nowotworową rozdzielono mechanicznie w celu uzyskania zawiesiny pojedynczych komórek, a komórki B uwieczniono selektywnie in vitro przy użyciu supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmozety w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Długotrwała ekspansja dała stabilną kulturę komórek B monoklonalnych, co potwierdziła analiza rearanżacji genów immunoglobulin. B-LCL-HROC57 wydziela immunoglobulinę G (IgG) jako wyłączny izotyp, ze stabilną produkcją podczas długotrwałej hodowli. W testach wiązania opartych na komórkach IgG pochodzące z B-LCL-HROC57 wykazują mierzalne wiązanie z allogenicznymi liniami komórkowymi raka jelita grubego, o pośredniej intensywności wiązania w stosunku do innych IgG pochodzących z TiBc. Analizy immunofluorescencyjne wskazują na przeważające rozpoznawanie celów wewnątrzkomórkowych w komórkach nowotworowych. W przypadku braku egzogennego wirusa EBV podczas ustanawiania hodowli nie dochodzi do spontanicznego wzrostu komórek B, co wyklucza utajoną transformację wywołaną przez wirusa EBV in vivo. Jako monoklonalna, doświadczona antygenowo linia komórek B infiltrujących nowotwór, B-LCL-HROC57 stanowi określony model do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych w raku jelita grubego oraz do identyfikacji antygenów związanych z nowotworem rozpoznawanych przez lokalnie rozszerzone klony komórek B.
Organism	Człowiek
Tissue	Krew obwodowa
Disease	Rak
Synonyms	Bc HROC57, TiBcHROC57

Charakterystyka

Age	43 lata
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Okrągłe komórki
Cell type	Limfoblast B

Komórki B-LCL-HROC57 | 302072

Growth properties	Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation	B-LCL-HROC57 (numer katalogowy Cytion 302072)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UR
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-HROC57 | 302072

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-HROC57 | 302072

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***: '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