

Komórki B-LCL-HROC57 | 302072

Informacje ogólne

Description

B-LCL-HROC57 to linia komórek limfoblastycznych B człowieka, uwieczniona przez wirusa 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 neuroendokryne 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 potwierdzono analizą 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 mieralne 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 egzogenego 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 Uzupelnic podloze 10% FBS inaktywowanym termicznie

Subculturing Delikatnie homogenizowac zawiesine komorek w kolbie, pipetujac w gore i w dol, a nastepnie pobrac reprezentatywna probke w celu okreslenia gestosci komorek na ml. Rozcieniczyc zawiesine swiezym podlozem hodowlanym, aby uzyskac stezenie komorek wynoszace 1 x 10⁵ komorek/ml, a nastepnie podzielic dostosowanac zawiesine na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.

Freeze medium Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia 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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**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 fiolkę 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA

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