Product sheet

Celule B-LCL-HROC59 | 302073

Informații generale

Description	B-LCL-HROC59 este o linie celulară limfoblastoidă umană imortalizată cu virusul Epstein-Barr (EBV), generată din celule B infiltrate în tumoră (TiBc) izolate dintr-un carcinom colorectal primar denumit HROC59. Tumora parentală a fost rezecată de la un pacient adult de sex masculin cu carcinom colorectal sporadic pe partea dreaptă și boală în stadiu avansat. Țesutul tumoral proaspăt a fost disociat mecanic pentru a obține suspensii de celule unice, iar celulele B au fost imortalizate selectiv in vitro folosind supernatant conținând EBV derivat din linia celulară B95/8 marmoset în prezența ciclosporinei A pentru a suprima expansiunea celulelor T și NK. Cultura pe termen lung a dus la creșterea stabilă a unei populații de celule B monoclonale, așa cum s-a demonstrat prin analiza rearanjării genelor imunoglobulinelor. B-LCL-HROC59 secretă imunoglobulina G (IgG) ca izotip exclusiv, cu o producție stabilă pe parcursul unei culturi prelungite. În testele de legare bazate pe celule, IgG derivată din B-LCL-HROC59 a demonstrat o legare minimă la liniile celulare alogene de carcinom colorectal testate, în comparație cu alte IgG derivate din TiBc care prezintă o reactivitate mai puternică a celulelor tumorale. Nu s-au observat dovezi de creștere spontană a celulelor B în absența EBV exogen în timpul stabilirii culturii, ceea ce indică faptul că imortalizarea a avut loc in vitro, rather than reflecting latent EBV-driven transformation in vivo. Ca linie celulară B monoclonală, cu experiență antigenică, care infiltrează tumorile, B-LCL-HROC59 oferă un model definit pentru studierea răspunsurilor imune umorale în micromediul cancerului colorectal și pentru investigarea specificității și proprietăților funcționale ale anticorpilor asociați tumorilor.
Organism	Om
Tissue	Sânge periferic
Disease	Carcinom
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Caracteristici

Age	76 de ani
Gender	Masculin
Ethnicity	Caucazian
Morphology	Celule rotunde
Cell type	B limfoblast
Growth properties	Suspensie

Product sheet

Celule B-LCL-HROC59 | 302073

Date de reglementare

Citation	B-LCL-HROC59 (număr de catalog Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Date biomoleculare

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS inactivat termic
Subculturing	Omogenizați ușor suspensia celulară din balon prin pipetare în sus și în jos, apoi prelevați o probă reprezentativă pentru a determina densitatea celulară pe ml. Diluați suspensia pentru a obține o concentrație celulară de 1 x 10^5 celule/ml cu mediu de cultură proaspăt și distribuiți suspensia ajustată în baloane noi pentru cultivare ulterioară.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule B-LCL-HROC59 | 302073

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.
Alele HLA	**A***: '03:01:01, '24:02:01 **B***: '01:02:01, '27:05:02 **C***: '02:02:02, '07:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '14:01:01 **E**: '01:03:02