

Celule B-LCL-HROC69 | 300864

Informații generale

Description

B-LCL-HROC69 este o linie celulară limfoblastoidă B imortalizată cu virusul Epstein-Barr (EBV), creată din celule B infiltrate în tumoră (TiBc) izolate dintr-o probă de carcinom colorectal primar denumită HROC69. Tumora parentală provenea de la un pacient adult de sex masculin cu carcinom colorectal de tip sporadic convențional în stadiu avansat, localizat în partea dreaptă. Celulele B au fost izolate din țesutul tumoral proaspăt rezecat și imortalizate ex vivo folosind supernatantul din linia celulară B95/8 marmoset producătoare de EBV în prezența ciclosporinei A pentru a suprima creșterea celulelor T și NK. Creșterea clonelor de celule B transformate cu EBV a avut loc de obicei în câteva săptămâni, iar clonalitatea a fost confirmată prin analiza rearanjării genelor lanțurilor grele și ușoare de imunoglobulină utilizând protocoale PCR multiplex BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 secretă imunoglobulină A (IgA), conform determinării prin ELISA specifică izotipului din supernatantul culturilor pe termen lung. Spre deosebire de mai multe linii TiBc producătoare de IgG stabilite în paralel, IgA derivată din HROC69 nu a fost caracterizată în continuare pentru legarea celulelor tumorale în testele inițiale de screening funcțional. Este important de menționat că nu s-a produs nicio creștere spontană a culturilor de celule B în absența EBV exogen, ceea ce indică faptul că imortalizarea este un eveniment in vitro și nu consecința unei infecții EBV latente in vivo. Prin urmare, B-LCL-HROC69 reprezintă un model monoclonal de celule B infiltrate în tumori, cu experiență antigenică, adecvat pentru investigarea răspunsurilor imune umorale în micromediul carcinomului colorectal și pentru identificarea potențială a antigenelor asociate tumorilor recunoscute de clonele de celule B expandate local.

Organism

Om

Tissue

Sânge periferic

Disease

Carcinom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Caracteristici

Age

62 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Morphology

Celule rotunde

Cell type

B limfoblast

Growth properties

Suspensie

Celule B-LCL-HROC69 | 300864

Date de reglementare

Citation	B-LCL-HROC69 (număr de catalog Cytion 300864)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_YD53

Date biomoleculare

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (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 1×10^5 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-HROC69 | 300864

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% CO_2 , 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.

Celule B-LCL-HROC69 | 300864

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.