

Celule B-LCL-HROC60 | 302004

Informații generale

Description

B-LCL-HROC60 este o linie celulară limfoblastoidă B umană imortalizată cu virusul Epstein-Barr (EBV), stabilită din celule B infiltrate în tumoră (TiBc) izolate dintr-un carcinom colorectal primar denumit HROC60. Tumora parentală provenea de la un pacient adult de sex masculin cu carcinom colorectal pe partea dreaptă, de subtip molecular CpG island methylator phenotype-high (CIMP-H). 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 creșterea celulelor T și NK. Expansiunea pe termen lung a dus la o cultură de celule B monoclonale, confirmată prin analiza rearanjării genelor lanțurilor grele și ușoare ale imunoglobulinei folosind teste standardizate de clonalitate.

B-LCL-HROC60 secretă imunoglobulina M (IgM) ca izotip dominant, cu o producție stabilă pe parcursul unei culturi prelungite. În seria mai largă de linii de celule B infiltrate în tumoră generate din carcinomul colorectal, secreția de imunoglobulină a fost limitată la un singur izotip principal per clonă și nu s-a produs nicio creștere spontană în absența EBV exogen, excluzând transformarea latentă in vivo determinată de EBV. Ca linie monoclonală, cu experiență antigenică, derivată din TiBc dintr-un carcinom colorectal CIMP-H, B-LCL-HROC60 oferă un model in vitro relevant pentru investigarea răspunsurilor imune umorale în micromediul tumorii colorectale și pentru caracterizarea proprietăților funcționale ale anticorpilor derivați din celulele B infiltrate în tumoră.

Organism

Om

Tissue

Sânge periferic

Disease

Carcinom

Synonyms

Bc HROC60, TiBcHROC60

Caracteristici

Age

71 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Morphology

Celule rotunde

Cell type

B limfoblast

Growth properties

Suspensie

Celule B-LCL-HROC60 | 302004

Date de reglementare

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | B-LCL-HROC60 (număr de catalog Cytion 302004) |
| Biosafety level | 2 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_A7UT |

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-HROC60 | 302004

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-HROC60 | 302004

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 / Profil genetic / HLA

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*: '02:01:01, '11:01:01

B*: '44:02:01, '55:01:01

C*: '03:03:01, '05:01:01

DRB1*: '01:01:01, '13:01:01

DQA1*: '01:01:01, '01:03:01

DQB1*: '05:01:01, '06:03:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01