Product sheet

Bunky B-LCL-HROC59 | 302073

Všeobecné informácie

Description	B-LCL-HROC59 je ľudská B-lymfoblastová bunka imortalizovaná vírusom Epstein-Barrová (EBV), vytvorená z nádorových infiltrujúcich B-buniek (TiBc) izolovaných z primárneho kolorektálneho karcinómu označeného ako HROC59. Pôvodný nádor bol odstránený z dospelého mužského pacienta s pravostranným sporadickým kolorektálnym karcinómom a pokročilým štádiom ochorenia. Čerstvá nádorová tkanina bola mechanicky disociovaná, aby sa získali suspenzie jednotlivých buniek, a B bunky boli selektívne imortalizované in vitro pomocou supernatantu obsahujúceho EBV odvodeného z bunky B95/8 marmoset v prítomnosti cyklosporínu A na potlačenie expanzie T a NK buniek. Dlhodobá kultivácia viedla k stabilnému rastu monoklonálnej populácie B buniek, ako bolo preukázané analýzou reorganizácie génu imunoglobulínu. B-LCL-HROC59 vylučuje imunoglobulín G (IgG) ako svoj výlučný izotyp, s stabilnou produkciou počas dlhodobej kultivácie. V bunkových väzbových testoch IgG odvodený z B-LCL-HROC59 preukázal len minimálnu väzbu na testované alogénne bunky kolorektálneho karcinómu v porovnaní s inými IgG odvodenými z TiBc, ktoré vykazovali silnejšiu reaktivitu s nádorovými bunkami. Počas kultivácie neboli pozorované žiadne dôkazy spontánneho rastu B-buniek v neprítomnosti exogénneho EBV, čo naznačuje, že k imortalizácii došlo in vitro a nie v dôsledku latentnej transformácie EBV in vivo. Ako monoklonálna, antigénom skúsená B-bunka infiltrujúca nádor, B-LCL-HROC59 poskytuje definovaný model na štúdium humorálnych imunitných reakcií v mikroprostredí kolorektálneho karcinómu a na skúmanie špecificity a funkčných vlastností protilátok asociovaných s nádorom.
Organism	Ľudské
Tissue	Periférna krv
Disease	Karcinóm
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Charakteristika

Age	76 rokov
Gender	Muži
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Okrúhle bunky
Cell type	B lymfoblast
Growth properties	Pozastavenie

Bunky B-LCL-HROC59 | 302073

Regulačné údaje

Citation	B-LCL-HROC59 (katalógové číslo Cytion 302073)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7US

Biomolekulárne údaje

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS
Subculturing	Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zrieďte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1 x 10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky B-LCL-HROC59 | 302073

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.
Alely 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