

Bunky B-LCL-HROC69 | 300864**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-HROC69 je B-lymfoblastová bunka immortalizovaná vírusom Epstein-Barr (EBV), vytvorená z B-buniek infiltrujúcich nádor (TiBc) izolovaných z primárneho vzorku kolorektálneho karcinómu označeného ako HROC69. Pôvodný nádor pochádzal od dospelého mužského pacienta s pravostranným kolorektálnym karcinómom konvenčného sporadického typu a pokročilým štádiom ochorenia. B bunky boli izolované z čerstvo resekovaného nádorového tkaniva a immortalizované ex vivo pomocou supernatantu z bunky B95/8 marmoset produkujúcej EBV v prítomnosti cyklosporínu A na potlačenie rastu T a NK buniek. Rast klonov B-buniek transformovaných EBV sa typicky vyskytoval v priebehu niekoľkých týždňov a klonalita bola potvrdená analýzou reorganizácie génov ťažkých a ľahkých reťazcov imunoglobulínu pomocou multiplexných PCR protokolov BIOMED-2.

B-LCL-HROC69 sekrétuje imunoglobulín A (IgA), ako bolo stanovené pomocou izotypovo špecifického ELISA dlhodobých kultivačných supernatantov. Na rozdiel od niekoľkých línií TiBc produkujúcich IgG, ktoré boli vytvorené paralelne, IgA pochádzajúci z HROC69 nebol ďalej charakterizovaný z hľadiska väzby na nádorové bunky v počiatočných funkčných skriningových testoch. Dôležité je, že v neprítomnosti exogénneho EBV nedošlo k spontánnemu rastu kultúr B-buniek, čo naznačuje, že immortalizácia je in vitro udalosťou a nie dôsledkom latentnej EBV infekcie in vivo. B-LCL-HROC69 preto predstavuje monoklonálny model B-buniek infiltrujúcich nádor, ktoré majú skúsenosti s antigénom, vhodný na skúmanie humorálnych imunitných reakcií v mikroprostredí kolorektálneho karcinómu a na potenciálnu identifikáciu nádorových antigénov rozpoznávaných lokálne expandovanými klonmi B-buniek.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Disease

Karcinóm

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Charakteristika**Age**

62 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Okrúhle bunky

Cell type

B lymfoblast

Bunky B-LCL-HROC69 | 300864**Growth properties**

Pozastavenie

Regulačné údaje**Citation** B-LCL-HROC69 (katalógové číslo Cytion 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**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** Doplníte 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 zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1×10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne 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 kryom.

Bunky B-LCL-HROC69 | 300864

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 % CO_2 , 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.

Bunky B-LCL-HROC69 | 300864

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 mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.