

Bunky B-LCL-HROC68 | 302078**Všeobecné informácie****Description**

B-LCL-HROC68 je ľudská B-lymfoblastová bunka immortalizovaná vírusom Epstein-Barrová (EBV), vytvorená z B-buniek infiltrujúcich nádor (TiBc) izolovaných z primárneho kolorektálneho karcinómu označeného ako HROC68. Pôvodným nádorom bol sporadický kolorektálny karcinóm resekovaný u dospelého mužského pacienta s pokročilým štádiom ochorenia. Čerstvá nádorová tkanina bola mechanicky disociovaná a B bunky boli kultivované v prítomnosti supernatantu obsahujúceho EBV odvodeného z bunky B95/8 marmoset, spolu s cyklosporínom A na potlačenie rastu T a NK buniek. Dlhodobá kultivácia viedla k monoklonálnej expanzii B buniek, čo potvrdila analýza reorganizácie génov imunoglobulínu pomocou multiplexných PCR protokolov BIOMED-2, ktorá preukázala jediný dominantný vzor reorganizácie konzistentný s klonálnym pôvodom.

B-LCL-HROC68 vylučuje imunoglobulín G (IgG) ako svoj výhradný izotyp, s stabilnou produkciou počas dlhodobej kultivácie. Pri skríningu ELISA na báze buniek proti alogénnym bunkovým líniam kolorektálneho karcinómu (HROC24, HROC46 a HCT116) IgG odvodený z B-LCL-HROC68 preukázal merateľnú väzbu na nádorové bunky, pričom najsilnejší signál bol pozorovaný proti bunkám HCT116. Následná validácia prietokovou cytometriou však ukázala porovnateľne slabú väzbovú afinitu v porovnaní s inými IgG odvodenými z TiBc. Tieto zistenia naznačujú, že B-LCL-HROC68 predstavuje monoklonálnu, antigénom skúsenú líniu B-buniek infiltrujúcich nádor, schopnú produkovať funkčné IgG s detekovateľnou reaktivitou nádorových buniek, čo poskytuje užitočný in vitro nástroj na skúmanie humorálnych imunitných reakcií v mikroprostredí kolorektálneho karcinómu a na potenciálnu identifikáciu nádorových antigénov.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Disease

Karcinóm

Synonyms

Bc HROC68, TiBcHROC68

Charakteristika**Age**

84 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Okrúhle bunky

Cell type

B lymfoblast

Growth properties

Pozastavenie

Bunky B-LCL-HROC68 | 302078**Regulačné údaje****Citation** B-LCL-HROC68 (katalógové číslo Cytion 302078)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UU**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 výroby 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 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 regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky B-LCL-HROC68 | 302078

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky B-LCL-HROC68 | 302078

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 / Genetický profil / HLA

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.

Alely HLA

A*: '02:01:01, '29:02:01

B*: '13:02:01, '44:03:01

C*: '06:02:01, '16:01:01

DRB1*: '07:01:01

DQA1*: '02:01:01

DQB1*: '02:02:01

DPB1*: '01:01:01, '04:01:01

E: '01:01, '01:03