Product sheet

Celice B-LCL-HROC59 | 302073

Splošne informacije

Description	B-LCL-HROC59 je človeška B-limfoblastna celična linija, nesmrtonosna zaradi virusa Epstein-Barr (EBV), ki je bila ustvarjena iz tumorja infiltriranih B-celic (TiBc), izoliranih iz primarnega kolorektalnega karcinoma, imenovanega HROC59. Starševski tumor je bil odstranjen iz odraslega moškega pacienta z desnostranskim sporadičnim kolorektalnim karcinomom in napredno boleznijo. Sveže tumorsko tkivo je bilo mehansko razgrajeno, da se je pridobilo suspenzije enoceličnih celic, B-celice pa so bile selektivno nesmrtožne in vitro z uporabo supernatanta, ki vsebuje EBV, pridobljenega iz celične linije marmoset B95/8 v prisotnosti ciklosporina A za zaviranje širjenja T- in NK-celic. Dolgotrajna kultura je privedla do stabilne rasti populacije monoklonalnih B-celic, kot je pokazala analiza preureditve imunoglobulinskega gena. B-LCL-HROC59 izloča imunoglobulin G (IgG) kot svoj ekskluzivni izotip, s stabilno proizvodnjo med podaljšano kultiviranjem. V celičnih vezavnih testih je IgG, pridobljen iz B-LCL-HROC59, pokazal le minimalno vezavo na testirane alogene celične linije kolorektalnega karcinoma v primerjavi z drugimi IgG, pridobljenimi iz TiBc, ki so pokazali močnejšo reaktivnost tumorjev. Med vzpostavitvijo kulture ni bilo opaziti nobenih znakov spontanega razraščanja B-celic v odsotnosti eksogenega EBV, kar kaže, da je imortalizacija potekala in vitro in ne odraža latentne transformacije, povzročene z EBV in vivo. Kot monoklonska, antigenu izpostavljena linija B-celic, ki infiltrira tumor, B-LCL-HROC59 zagotavlja definiran model za preučevanje humoralnih imunskih odzivov v mikrookolju kolorektalnega raka in za preučevanje specifičnosti in funkcionalnih lastnosti protiteles, povezanih s tumorjem.
Organism	Človek
Tissue	Periferna kri
Disease	Karcinom
Synonyms	Bc HROC59, TiBcHROC59

Značilnosti

Age	76 let
Gender	Moški
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Okrogle celice
Cell type	Limfoblast B
Growth properties	Vzmetenje

Product sheet

Celice B-LCL-HROC59 | 302073

Regulativni podatki

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

Biomolekularni podatki

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformant: EBV

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % toplotno aktiviranega FBS
Subculturing	Nežno homogenizirajte celično suspenzijo v kolbi s pipetiranjem navzgor in navzdol, nato odvzemite reprezentativni vzorec za določitev gostote celic na ml. Suspenzijo razredčite, da dosežete koncentracijo celic 1 x 10^5 celic/ml s svežim kultiviranim medijem, in prilagojeno suspenzijo razdelite v nove kolbe za nadaljnje gojenje.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice B-LCL-HROC59 | 302073

Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli 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