

Celice B-LCL-HROC69 | 300864**Splošne informacije****Description**

B-LCL-HROC69 je linija B-limfoblastoidnih celic, nesmrtonosnih zaradi virusa Epstein-Barr (EBV), ki je bila vzpostavljena iz tumorja infiltrirajočih B-celic (TiBc), izoliranih iz primarnega vzorca kolorektalnega karcinoma, označenega kot HROC69. Izvorni tumor je izviral od odraslega moškega pacienta z desnostranskim kolorektalnim karcinomom konvencionalnega sporadičnega tipa in napredovalim stadijem bolezni. B-celice so bile izolirane iz sveže odstranjenega tumorja in immortalizirane ex vivo z uporabo supernatanta iz linije celic marmoset B95/8, ki proizvajajo EBV, v prisotnosti ciklosporina A za zaviranje rasti T- in NK-celic. Rast klonov B-celic, transformiranih z EBV, se je običajno pojavila v nekaj tednih, klonalnost pa je bila potrjena z analizo preureditve genov težkih in lahkih verig imunoglobulina z uporabo protokolov BIOMED-2 multiplex PCR.

B-LCL-HROC69 izloča imunoglobulin A (IgA), kot je bilo ugotovljeno z izotipsko specifičnim ELISA dolgoročnih kultiviranih supernatantov. V nasprotju z več linijami TiBc, ki proizvajajo IgG, vzpostavljenimi vzporedno, IgA, pridobljen iz HROC69, ni bil nadalje karakteriziran za vezavo tumorskih celic v začetnih funkcionalnih presejalnih testih. Pomembno je, da se v odsotnosti eksogenega EBV ni pojavila spontana rast B-celic, kar kaže, da je immortalizacija in vitro dogodek in ne posledica latentne EBV okužbe in vivo. B-LCL-HROC69 zato predstavlja monoklonalni model B-celic, ki so izpostavljene antigenom in infiltrirajo tumor, primeren za preučevanje humoralnih imunskih odzivov v mikrookolju kolorektalnega karcinoma in za potencialno identifikacijo tumorjev povezanih antigenov, ki jih prepoznajo lokalno razširjeni kloni B-celic.

Organism

Človek

Tissue

Periferna kri

Disease

Karcinom

Synonyms

B-LCL CO69, Bc HROC69, TiBcHROC69

Značilnosti**Age**

62 let

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Okrogle celice

Cell type

Limfoblast B

Growth properties

Vzmetenje

Celice B-LCL-HROC69 | 300864**Regulativni podatki****Citation** B-LCL-HROC69 (katalogska številka Cytion 300864)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_YD53**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 odzemi reprezentativni vzorec za določitev gostote celic na ml. Suspenzijo razredčite, da dosežete koncentracijo celic 1×10^5 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 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice B-LCL-HROC69 | 300864

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 $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite 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 % CO_2 , 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 vialo 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 vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice B-LCL-HROC69 | 300864

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial 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.