

Celice B-LCL-HROC68 | 302078**Splošne informacije****Description**

B-LCL-HROC68 je človeška B-limfoblastna celična linija, nesmrtonosna zaradi virusa Epstein-Barr (EBV), vzpostavljena iz tumorja infiltrirajočih B-celic (TiBc), izoliranih iz primarnega kolorektalnega karcinoma, imenovanega HROC68. Starševski tumor je bil sporadični kolorektalni karcinom, odstranjen iz odraslega moškega pacienta z napredno boleznijo. Sveže tumorsko tkivo je bilo mehansko razgrajeno, B-celice pa so bile gojene v prisotnosti supernatanta, ki vsebuje EBV, pridobljenega iz celične linije marmosetov B95/8, skupaj s ciklosporinom A za zaviranje rasti T- in NK-celic. Dolgotrajna kultura je povzročila monoklonalno razširitev B-celic, kar je potrdila analiza preureditve imunoglobulinskega gena z uporabo BIOMED-2 multipleksnih PCR protokolov, ki je pokazala enoten prevladujoč vzorec preureditve, skladen s klonalnim izvorom.

B-LCL-HROC68 izloča imunoglobulin G (IgG) kot svoj ekskluzivni izotip, s stabilno proizvodnjo med podaljšano kultiviranjem. V celičnem ELISA presejanju proti alogenim celicam kolorektalnega raka (HROC24, HROC46 in HCT116) je IgG, pridobljen iz B-LCL-HROC68, pokazal merljivo vezavo na tumorske celice, pri čemer je bil najmočnejši signal opazen pri celicah HCT116. Vendar je naknadna validacija s pretočno citometrijo pokazala sorazmerno šibko vezavno afiniteto v primerjavi z drugimi IgG, pridobljenimi iz TiBc. Ti rezultati kažejo, da B-LCL-HROC68 predstavlja monoklonalno, antigen-izkušeno linijo B-celic, ki infiltrira tumor in je sposobna proizvajati funkcionalni IgG z zaznavno reaktivnostjo tumorja, kar zagotavlja uporabno in vitro orodje za preučevanje humoralnih imunskih odzivov v mikrookolju kolorektalnega karcinoma in za potencialno identifikacijo tumorja povezanih antigenov.

Organism

Človek

Tissue

Periferna kri

Disease

Karcinom

Synonyms

Bc HROC68, TiBcHROC68

Značilnosti**Age**

84 let

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Okrogle celice

Cell type

Limfoblast B

Growth properties

Vzmetenje

Celice B-LCL-HROC68 | 302078**Regulativni podatki****Citation** B-LCL-HROC68 (kataloška številka Cytion 302078)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UU**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 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice B-LCL-HROC68 | 302078

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 krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice B-LCL-HROC68 | 302078

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.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

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*: '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