Product sheet

Celice B-LCL-HROC68 | 302078

Splošne informacije

Description	B-LCL-HROC68 je človeška B-limfoblastna celična linija, nesmrtena z virusom 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 celičnim linijam 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 proti celicam 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, antigenu izpostavljeno linijo B-celic, ki infiltrira tumor in je sposobna proizvajati funkcionalni IgG z zaznavno reaktivnostjo tumorjev, kar zagotavlja uporabno in vitro orodje za preučevanje humoralnih imunskih odzivov v mikrookolju kolorektalnega karcinoma in za potencialno identifikacijo tumorjev 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

Product sheet

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 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-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 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***: '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