

Celice B-LCL-HROC57 | 302072

Splošne informacije

Description

B-LCL-HROC57 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 HROC57. Izvorni tumor je izviral iz odraslega moškega pacienta z desnostranskim kolorektalnim karcinomom, ki je kazal nevroendokrino diferenciacijo in napredno stopnjo bolezni. Sveže tumorsko tkivo je bilo mehansko razgrajeno, da se je pridobilo suspenzije enoceličnih celic, B-celice pa so bile selektivno nesmrtožive in vitro z uporabo supernatanta, ki vsebuje EBV, pridobljenega iz celične linije marmosetov B95/8 v prisotnosti ciklosporina A za zaviranje rasti T- in NK-celic. Dolgoročna ekspanzija je privedla do stabilne monoklonske kulture B-celic, kar je potrdila analiza prerazporeditve imunoglobulinskega gena.

B-LCL-HROC57 izloča imunoglobulin G (IgG) kot svoj ekskluzivni izotip, s stabilno proizvodnjo v podaljšanem kultiviranju. V celičnih vezavnih testih IgG, pridobljen iz B-LCL-HROC57, kaže merljivo vezavo na alogene celične linije kolorektalnega karcinoma, z vmesno vezavno intenzivnostjo v primerjavi z drugimi IgG, pridobljenimi iz TiBc. Imunofluorescenčne analize kažejo pretežno intracelularno prepoznavanje cilja v tumorskih celicah. V odsotnosti eksogenega EBV med vzpostavitvijo kulture ne pride do spontane rasti B-celic, kar izključuje latentno EBV-pogojeno transformacijo in vivo. Kot monoklonalna, antigen-izkušena linija B-celic, ki infiltrira tumor, B-LCL-HROC57 predstavlja definiran model za preučevanje humoralnih imunskih odzivov pri kolorektalnem karcinomu in za identifikacijo tumorjev povezanih antigenov, ki jih prepoznajo lokalno razširjeni kloni B-celic.

Organism Človek

Tissue Periferna kri

Disease Karcinom

Synonyms Bc HROC57, TiBcHROC57

Značilnosti

Age 43 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Morphology Okrogle celice

Cell type Limfoblast B

Growth properties Vzmetenje

Celice B-LCL-HROC57 | 302072**Regulativni podatki****Citation** B-LCL-HROC57 (kataloška številka Cytion 302072)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A7UR**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 odzemite 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-HROC57 | 302072

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

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

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.

Celice B-LCL-HROC57 | 302072

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.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo 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 izključuje 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*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '08:01:01, '27:01:01
C*: '06:02:01, '07:01:01
DRB1*: '03:01:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01:01, '03:03:02
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:01:01, '01:03:02