Product sheet

Клітини B-LCL-HROC68 | 302078

Загальна інформація

Description	B-LCL-HROC68 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія людських B-лімфобластоїдних клітин, створена з B-клітин, що інфільтрують пухлину (TiBc), виділених з первинної колоректальної карциноми під назвою HROC68. Батьківською пухлиною була колоректальна карцинома спорадичного типу, видалена у дорослого чоловіка з захворюванням на пізній стадії. Свіжу пухлинну тканину механічно дисоціювали, а B-клітини культивували в присутності супернатанта, що містив EBV, отриманого з клітинної лінії B95/8 мармозет, разом з циклоспорином A для пригнічення росту T- і NK-клітин. Довготривала культура призвела до моноклонального розширення B-клітин, що було підтверджено аналізом реорганізації генів імуноглобуліну за допомогою протоколів мультиплексного ПЛР BIOMED-2, який продемонстрував єдиний домінуючий патерн реорганізації, що відповідає клональному походженню. B-LCL-HROC68 секретує імуноглобулін G (IgG) як свій ексклюзивний ізотип, зі стабільною продукцією протягом тривалого культивування. У клітинному скринінгу ELISA проти алогенних ліній клітин колоректального раку (HROC24, HROC46 та HCT116) IgG, отриманий з B-LCL-HROC68, продемонстрував вимірюване зв'язування з пухлинними клітинами, причому найсильніший сигнал спостерігався проти клітин HCT116. Однак подальша валідація методом проточної цитометрії показала порівняно слабку афінність зв'язування порівняно з іншими IgG, отриманими з TiBc. Ці результати вказують на те, що B-LCL-HROC68 представляє собою моноклональну лінію B-клітин, що інфільтрують пухлину, здатну продукувати функціональний IgG з виявляється реактивністю до пухлинних клітин, що є корисним інструментом in vitro для дослідження гуморальних імунних реакцій у мікросередовищі колоректального раку та для потенційної ідентифікації пухлинних антигенів.
Organism	Людина
Tissue	Периферична кров
Disease	Карцинома
Synonyms	Bc HROC68, TiBcHROC68

Характеристики

Age	84 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Круглі клітини
Cell type	Лімфобласт B

Клітини B-LCL-HROC68 | 302078

Growth properties	Підвіска

Нормативні дані

Citation	B-LCL-HROC68 (номер за каталогом Cytion 302078)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A7UU

Біомолекулярні дані

Surface antigens	CD19
Viruses	Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS
Subculturing	Акуратно гомогенізуйте суспензію клітин у колбі, піпетуючи її вгору і вниз, а потім візьміть репрезентативну пробу для визначення щільності клітин на мл. Розведіть суспензію свіжим культуральним середовищем до концентрації 1 x 10^5 клітин/мл і розлийте відрегульовану суспензію в нові колби для подальшого культивування.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини B-LCL-HROC68 | 302078

Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини B-LCL-HROC68 | 302078

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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