

Клітини B-LCL-HROC60 | 302004

Загальна інформація

Description

B-LCL-HROC60 — це імунізована вірусом Епштейна-Барра (EBV) лінія клітин В-лімфобластів людини, створена з клітин В, що інфільтрують пухлину (ТіВс), виділених з первинної колоректальної карциноми, позначеної як HROC60. Батьківська пухлина походила від дорослого пацієнта чоловічої статі з правобічною колоректальною карциномою молекулярного підтипу з високим фенотипом метилування островів CpG (CIMP-H). Свіжу пухлинну тканину механічно дисоціювали для отримання суспензій одноклітинних клітин, а В-клітини селективно імунізували *in vitro* за допомогою супернатанта, що містив EBV, отриманого з клітинної лінії B95/8 мармозетки в присутності циклоспорину А для пригнічення росту Т- і NK-клітин. Довготривала експансія призвела до утворення моноклональної культури В-клітин, що було підтверджено аналізом перегрупування генів важких і легких ланцюгів імуноглобуліну за допомогою стандартизованих тестів на клональність.

B-LCL-HROC60 секретує імуноглобулін М (IgM) як домінуючий ізотип, з стабільною продукцією протягом тривалого культивування. У широкій серії ліній В-клітин, що інфільтрують пухлину, отриманих з колоректального раку, секреція імуноглобуліну була обмежена одним основним ізотипом на клон, і спонтанного росту не відбувалося за відсутності екзогенного EBV, що виключає латентну *in vivo* трансформацію, спричинену EBV. Як моноклональна лінія, що походить від ТіВс з колоректальної карциноми CIMP-H, B-LCL-HROC60 забезпечує відповідну *in vitro* модель для дослідження гуморальних імунних реакцій у мікросередовищі колоректальної пухлини та для характеристики функціональних властивостей антитіл, що походять від В-клітин, які інфільтрують пухлину.

Organism Людина

Tissue Периферична кров

Disease Карцинома

Synonyms Вс HROC60, ТіВсHROC60

Характеристики

Age 71 рік

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Круглі клітини

Cell type Лімфобласт В

Клітини B-LCL-HROC60 | 302004

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation B-LCL-HROC60 (номер за каталогом Cytion 302004)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UT

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 Акратно 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 1×10^5 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-HROC60 | 302004

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 криовіал 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, зануливши 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 криовіал 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

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-HROC60 | 302004

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

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, '11:01:01
B*: '44:02:01, '55:01:01
C*: '03:03:01, '05:01:01
DRB1*: '01:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01