B-LCL-HROC69

300864

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

B-LCL-HROC69 to linia komórek limfoblastycznych B uwieczniona przez wirusa Epsteina-Barra (EBV), utworzona z komórek B infiltrujących nowotwór (TiBc) izolowanych z pierwotnej próbki raka jelita grubego oznaczonej jako HROC69. Nowotwór macierzysty pochodził od dorosłego mężczyzny z rakiem jelita grubego po prawej stronie, typu konwencjonalnego sporadycznego, w zaawansowanym stadium. Komórki B zostały wyizolowane ze świeżo wyciętej tkanki nowotworowej i unieśmiertelnione ex vivo przy użyciu supernatantu z linii komórkowej B95/8 marmozety produkującej EBV w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Wzrost klonów komórek B transformowanych przez EBV następował zazwyczaj w ciągu kilku tygodni, a klonalność potwierdzono poprzez analizę rearanżacji genów ciężkich i lekkich łańcuchów immunoglobulin przy użyciu protokołów wielokrotnej reakcji łańcuchowej polimerazy BIOMED-2. B-LCL-HROC69 wydziela immunoglobulinę A (IgA), co określono za pomocą testu ELISA specyficznego dla izotypu długotrwałych supernatantu hodowli. W przeciwieństwie do kilku równolegle ustanowionych linii TiBc wytwarzających IgG, IgA pochodząca z HROC69 nie została dalej scharakteryzowana pod kątem wiązania komórek nowotworowych w początkowych testach przesiewowych funkcjonalności. Co ważne, nie wystąpił spontaniczny wzrost kultur komórek B w przypadku braku egzogennego wirusa EBV, co wskazuje, że unieśmiertelnienie jest zjawiskiem in vitro, a nie konsekwencją utajonego zakażenia wirusem EBV in vivo. B-LCL-HROC69 stanowi zatem monoklonalny model komórek B infiltrujących nowotwór, które miały kontakt z antygenem, odpowiedni do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych w mikrośrodowisku raka jelita grubego oraz do potencjalnej identyfikacji antygenów związanych z nowotworem rozpoznawanych przez lokalnie rozszerzone klony komórek B.

Chusteczka	Krew obwodowa
Choroba	Rak

Synonimy

- B-LCL CO69
- Bc HROC69
- TiBcHROC69

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Mężczyzna
Właściwości związane ze wzrostem	Zawieszenie
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	2

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Okrągłe komórki
Typ komórki	Limfoblast B

IDENTYFIKATORY

Źródło

B-LCL-HROC69 (numer katalogowy Cytion 300864)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_YD53

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Antygeny powierzchniowe

CD19

Wirusy

Transformant: EBV

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie

Hodowla komórek w subkulturze

Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1 x 10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.

Rozmrażanie i hodowla

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	62 lata
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes