B-LCL-HROC57

302072

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

B-LCL-HROC57 ir Epšteina-Barra vīrusa (EBV) imortalizēta cilvēka B limfoblastoīdu šūnu līnija, kas izveidota no audzēja infiltrējošām B šūnām (TiBc), kas izdalītas no primārā kolorektālā karcinoma, kas apzīmēts kā HROC57. Mātes audzējs cēlies no pieaugušā vīrieša pacienta ar labās puses kolorektālo karcinomu, kam raksturīga neiroendokrīnā diferenciācija un slimības progresējošs stadijs. Svaigs audzēja audi tika mehāniski disociēti, lai iegūtu vienšūnu suspensijas, un B šūnas tika selektīvi imortalizētas in vitro, izmantojot EBV saturošu supernatantu, kas iegūts no B95/8 marmoset šūnu līnijas, klātbūtnē ciklosporīna A, lai inhibētu T un NK šūnu izaugsmi. Ilgtermiņa ekspansija deva stabilu monoklonālo B šūnu kultūru, ko apstiprināja imūnglobulīna gēna pārkārtojuma analīze.
B-LCL-HROC57 izdalīja imūnglobulīnu G (IgG) kā ekskluzīvu izotipu, ar stabilu ražošanu ilgstošas kultivēšanas laikā. Šūnu saistīšanās testos IgG, kas iegūts no B-LCL-HROC57, parāda izmērāmu saistīšanos ar alogēnām kolorektālās karcinomas šūnu līnijām, ar vidēju saistīšanās intensitāti salīdzinājumā ar citiem TiBc iegūtiem IgG. Imunofluorescences analīzes liecina par galvenokārt intracelulāru mērķa atpazīšanu audzēja šūnās. Kultūras izveides laikā bez eksogēna EBV nav novērota spontāna B šūnu izaugsme, izslēdzot latentas EBV izraisītas transformācijas in vivo. Kā monoklonāla, antigēnu pieredzējusi audzēju infiltrējoša B šūnu līnija, B-LCL-HROC57 ir definēts modelis kolorektālās karcinomas humorālās imūnreakcijas izpētei un audzēju asociēto antigēnu identificēšanai, kurus atpazīst lokāli izplatīti B šūnu kloni.

Audums	Perifērās asinis
Slimība	Karcinoma

Sinonīmi

- Bc HROC57
- TiBcHROC57

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Vīrietis
Augšanas īpašības	Atsperes
Bioloģiskās drošības līmenis	2

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Apaļas šūnas
Šūnu tips	B limfoblasts

IDENTIFIKATORI

Atsauce

B-LCL-HROC57 (Cytion kataloga numurs 302072)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_A7UR

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Virsmas antigēni

CD19

Vīrusi

Transformants: EBV

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS

Pārstādīšana

Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1 x 10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	43 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Tiek piemēroti līgumi ar trešajām personām	Yes