

Клетки B-LCL-HROC72 | 302082

Обща информация

Description

B-LCL-HROC72 е имунизирана с вируса на Епщайн-Бар (EBV) човешка В лимфобластоидна клетъчна линия, създадена от В лимфоцити, изолирани от туморна тъкан или периферна кръв на възрастен пациент. Клетките са генерирани чрез *ex vivo* инфекция с EBV-съдържащ супернатант, получен от клетъчната линия B95/8 marmoset в присъствието на циклоспорин А за потискане на растежа на Т- и НК-клетки. След няколко седмици култивиране е постигнат стабилен лимфобластоиден растеж, което води до непрекъснато пролиферираща моноклонална или олигоклонална популация от В-клетки, подходяща за дългосрочно *in vitro* разширяване.

Имунофенотипно, B-LCL-HROC72 проявява зрял и активиран В-клетъчен профил, характеризиращ се с експресия на CD19 и CD20, заедно с високи нива на маркери за активиране и зреене, като CD23 и CD80. Силната експресия на молекули МНС клас I и клас II показва запазена способност за представяне на антигени. В зависимост от индивидуалния клон може да се наблюдава променлива експресия на маркери, свързани с диференциацията, като CD27, CD38 или CD138, което отразява различни стадии на зреене на В-клетките. Клетките са отрицателни за Т-клетъчни маркери, което потвърждава специфичността на линията.

Функционално, B-LCL-HROC72 секретира имуноглобулин с определен изотип (например IgG, IgM или IgA), който остава стабилен по време на продължителна култура. Секретираният антителен продукт може да бъдат събрани от културни супернатанти и използвани за последващи приложения, включително тестове за свързване на антигени, проучвания за разпознаване на туморни клетки или идентифициране на антигени, свързани с болестта. Като EBV-имунизиран модел на В-клетки, B-LCL-HROC72 предоставя стабилна *in vitro* платформа за изследване на хуморални имунни реакции, активиране и диференциация на В-клетки и механизми, медирирани от антитела, в контекста на туморната имунология или системните имунни реакции.

Organism Човек

Tissue Периферна кръв

Disease Карцином на дебелото черво

Характеристики

Morphology Кръгли клетки в суспензия

Cell type В лимфобласт

Growth properties Окачване

Регулаторни данни

Клетки B-LCL-HROC72 | 302082

Citation B-LCL-HROC72 (каталожен номер 302082 на Cytion)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

Биомолекуларни данни

Viruses Трансформатор: EBV

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% топлинно активиран FBS

Subculturing Нежно хомогенизирайте клетъчната суспензия в колбата, като я пипетирате нагоре и надолу, след което вземете представителна проба, за да определите клетъчната плътност на мл. Разрежете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от 1×10^5 клетки/мл с прясна културална среда, и разпределете коригираната суспензия в нови колби за по-нататъшно култивиране.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки B-LCL-HROC72 | 302082

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки B-LCL-HROC72 | 302082

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.