Product sheet

Клетки B-LCL-HROC72 | 302082

Обща информация

Description	B-LCL-HROC72 е имунизирана с вируса на Епщайн-Бар (EBV) човешка B-лимфобластоидна клетъчна линия, създадена от B-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 на мармозетка, в присъствието на циклоспорин A за потискане на растежа на T- и NK-клетки. След няколко седмици култивиране е постигнат стабилен лимфобластоиден растеж, което води до непрекъснато пролифериращa моноклонална или олигоклонална популация от B-клетки, подходяща за дългосрочно in vitro разширяване. Имунофенотипно, B-LCL-HROC72 проявява зрял и активиран B-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 MHC 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 B-клетките. Клетките са отрицателни за T-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. Секретираните антитела могат 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 B-клетки, B-LCL-HROC72 предоставя стабилна in vitro платформа за изследване на хуморални имунни реакции, активиране и диференциация на B-клетки и механизми, медиирани от антитела, в контекста на туморната имунология или системните имунни реакции.
Organism	Човек
Tissue	Периферна кръв
Disease	Карцином на дебелото черво
Metastatic site	Неприложимо (EBV-трансформирана B-LCL от пациент с карцином на дебелото черво)
Applications	Тестове за T-клетки и NK-клетки; HLA-типизиране; представяне на антигени; клетки-мишени за тестове на цитотоксични T-клетки (CTL); имунен отговор, свързан с колоректален рак; проучвания с биобанка HROC72, съобразена с пациентите

Характеристики

Ethnicity	Кавказки
Morphology	Лимфобластоподобни (кръгли клетки в суспензия)

Product sheet

Клетки B-LCL-HROC72 | 302082

Cell type	B лимфобласт
Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Citation	B-LCL-HROC72 (каталожен номер 302082 на Cytion)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не е определено
GMO Status	GMO-S2: Тази B-LCL съдържа стабилно поддържан епизом на EBV (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV е класифициран в рискова група 2; изисква се изолация от ниво BSL-2. Тази класификация важи за територията на Германия; в други държави нормативните изисквания могат да се различават.

Биомолекулярни 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. Разредете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от 1 x 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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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 антимикробен агент с температура 37°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 разбъркате 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%$_{CO2}$, 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 °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 в утвърдени, изолирани опаковки 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 и молекулярен анализ

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.