**Product sheet**

# Buňky B-LCL-HROC72 | 302082

## Obecné informace

| | |
|---|---|
| **Description** | B-LCL-HROC72 je lidská B lymfoblastoidní buněčná linie imortalizovaná virem Epstein-Barr (EBV), vytvořená z B lymfocytů izolovaných z nádorové tkáně nebo periferní krve dospělého pacienta. Buňky byly generovány ex vivo infekcí supernatantu obsahujícím EBV, který byl získán z buněčné linie B95/8 marmoset v přítomnosti cyklosporinu A za účelem potlačení růstu T- a NK-buněk. Po několika týdnech kultivace bylo dosaženo stabilního růstu lymfoblastoidních buněk, což vedlo k vytvoření kontinuálně se množící monoklonální nebo oligoklonální populace B-buněk vhodné pro dlouhodobou in vitro expanzi.<br><br>Imunofenotypicky vykazuje B-LCL-HROC72 profil zralých a aktivovaných B-buněk charakterizovaný expresí CD19 a CD20 spolu s vysokými hladinami markerů aktivace a zrání, jako jsou CD23 a CD80. Silná exprese molekul MHC třídy I a třídy II naznačuje zachovanou schopnost prezentace antigenu. V závislosti na jednotlivém klonu lze pozorovat variabilní expresi markerů spojených s diferenciací, jako jsou CD27, CD38 nebo CD138, což odráží různé stadia zrání B-buněk. Buňky jsou negativní na markery T-buněk, což potvrzuje specifitu linie.<br><br>Funkčně B-LCL-HROC72 sekretuje imunoglobulin definovaného izotypu (např. IgG, IgM nebo IgA), který zůstává stabilní během dlouhodobé kultivace. Sekretované protilátky lze sbírat z kultivačních supernatantů a použít pro následné aplikace, včetně testů vazby antigenů, studií rozpoznávání nádorových buněk nebo identifikace antigenů spojených s onemocněním. Jako model B-buněk imortalizovaných EBV poskytuje B-LCL-HROC72 robustní in vitro platformu pro zkoumání humorálních imunitních odpovědí, aktivace a diferenciace B-buněk a mechanismů zprostředkovaných protilátkami v kontextu nádorové imunologie nebo systémových imunitních odpovědí. |
| **Organism** | Člověk |
| **Tissue** | Periferní krev |
| **Disease** | Karcinom tlustého střeva |
| **Metastatic site** | Neplatí (EBV-transformované B-LCL od pacienta s karcinomem tlustého střeva) |
| **Applications** | Testování T-buněk a NK-buněk; typizace HLA; prezentace antigenu; cílové buňky pro testování CTL; imunitní reakce související s kolorektálním karcinomem; studie s využitím biobanky vzorků pacientů s HROC72 |

## Charakteristika

| | |
|---|---|
| **Ethnicity** | Kavkazský |
| **Morphology** | Lymfoblastové (kulaté buňky v suspenzi) |
| **Cell type** | B lymfoblast |
| **Growth properties** | Zavěšení |

# Buňky B-LCL-HROC72 | 302082

## Regulační údaje

| | |
|---|---|
| **Citation** | B-LCL-HROC72 (katalogové číslo Cytion 302082) |
| **Biosafety level** | 2 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | Není přiřazeno |
| **GMO Status** | GMO-S2: Tato linie B-LCL obsahuje stabilně udržovaný epizom EBV (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV je zařazen do rizikové skupiny 2; je vyžadováno bezpečnostní opatření BSL-2. Tato klasifikace platí v Německu; v jiných zemích se předpisy mohou lišit. |

## Biomolekulární data

| | |
|---|---|
| **Viruses** | Transformant: EBV |

## Zpracování

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a) |
| **Supplements** | Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS |
| **Subculturing** | Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zřeďte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1 x $10^5$ buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baněk pro další kultivaci. |
| **Freeze medium** | Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo. |

# Buňky B-LCL-HROC72 | 302082

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.<br>2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.<br>3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.<br>4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.<br>5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.<br>6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.<br>7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.<br>8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů. |
| **Incubation Atmosphere** | 37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra. |
| **Flask Coating** | Žádný |
| **Freezing Procedure** | Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu. |
| **Shipping Conditions** | Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu. |

| | |
|---|---|
| **Storage Conditions** | Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku. |

## Kontrola kvality a molekulární analýza

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.<br><br>Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám. |