

Buňky B-LCL-HROC72 | 302082

Obecné informace

Description

B-LCL-HROC72 je lidská B lymfoblastoidní buněčná linie immortalizovaná 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.

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.

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 immortalizovaných EBV poskytuje B-LCL-HROC72 robustní in vitro platformu pro zkoumání humorálních imunitních odpovědí, aktivace a diferenciaci 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

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 NaHCO ₃ (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 zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1×10^5 buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek 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 zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
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.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
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.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky B-LCL-HROC72 | 302082

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 / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.