

**Κύτταρα B-LCL-HROC278 | 302051****Γενικές πληροφορίες****Description**

Το B-LCL-HROC278 είναι μια αθανατοποιημένη με τον ιό Epstein-Barr (EBV) ανθρώπινη κυτταρική σειρά B λεμφοβλαστικών κυττάρων που δημιουργήθηκε από B λεμφοκύτταρα που απομονώθηκαν είτε από ιστό όγκου είτε από περιφερικό αίμα ενήλικου ασθενούς. Τα κύτταρα δημιουργήθηκαν με εξωσωματική μόλυνση με υπερκείμενο που περιείχε EBV, το οποίο προήλθε από την κυτταρική σειρά B95/8 marmoset, παρουσία κυκλοσπορίνης A για την καταστολή της ανάπτυξης των T- και NK-κυττάρων. Μετά από αρκετές εβδομάδες καλλιέργειας, επιτεύχθηκε σταθερή ανάπτυξη λεμφοβλαστικών κυττάρων, με αποτέλεσμα έναν συνεχώς πολλαπλασιαζόμενο μονοκλωνικό ή ολιγοκλωνικό πληθυσμό B-κυττάρων, κατάλληλο για μακροχρόνια in vitro επέκταση.

Από ανοσοφαινοτυπική άποψη, το B-LCL-HROC278 εμφανίζει ένα ώριμο και ενεργοποιημένο προφίλ B-κυττάρων που χαρακτηρίζεται από την έκφραση των CD19 και CD20, μαζί με υψηλά επίπεδα δεικτών ενεργοποίησης και ωρίμανσης, όπως τα CD23 και CD80. Η ισχυρή έκφραση των μορίων MHC κλάσης I και κλάσης II υποδηλώνει διατηρημένη ικανότητα παρουσίασης αντιγόνων. Ανάλογα με τον μεμονωμένο κλώνο, μπορεί να παρατηρηθεί μεταβλητή έκφραση δεικτών που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση, όπως CD27, CD38 ή CD138, αντανακλώντας διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των B-κυττάρων. Τα κύτταρα είναι αρνητικά για δείκτες T-κυττάρων, επιβεβαιώνοντας την ειδικότητα της γενεαλογικής σειράς.

Λειτουργικά, το B-LCL-HROC278 εκκρίνει ανοσοσφαιρίνη ενός καθορισμένου ιστύπου (π.χ. IgG, IgM ή IgA), η οποία παραμένει σταθερή κατά τη διάρκεια παρατεταμένης καλλιέργειας. Τα εκκριμένα αντισώματα μπορούν να συλληθούν από τα υπερκείμενα της καλλιέργειας και να χρησιμοποιηθούν για εφαρμογές κατάντη, συμπεριλαμβανομένων δοκιμασιών σύνδεσης αντιγόνων, μελετών αναγνώρισης καρκινικών κυττάρων ή ταυτοποίησης αντιγόνων που σχετίζονται με ασθένειες. Ως μοντέλο B-κυττάρων που έχουν αθανατοποιηθεί με EBV, το B-LCL-HROC278 παρέχει μια ισχυρή πλατφόρμα in vitro για τη διερεύνηση των χυμικών ανοσολογικών αποκρίσεων, της ενεργοποίησης και διαφοροποίησης των B-κυττάρων και των μηχανισμών που μεσολαβούν τα αντισώματα στο πλαίσιο της ανοσολογίας των όγκων ή των συστηματικών ανοσολογικών αποκρίσεων.

**Organism** Ανθρώπινο**Tissue** Περιφερικό αίμα**Disease** Καρκίνωμα**Synonyms** Bc HROC278**Χαρακτηριστικά****Age** 76 χρόνια**Gender** Γυναίκα**Ethnicity** Καυκάσιος

**Κύτταρα B-LCL-HROC278 | 302051****Morphology** Στρογγυλά κύτταρα**Cell type** Β λεμφοβλάστη**Growth properties** Αναστολή**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** B-LCL-HROC278 (αριθμός καταλόγου Cytion 302051)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A7UL**Βιομοριακά δεδομένα****Surface antigens** CD19**Viruses** Μετασηματιστής: EBV**Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS**Subculturing** Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με πιπέτωση προς τα πάνω και προς τα κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα για να επιτύχετε συγκέντρωση κυττάρων  $1 \times 10^5$  κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το ρυθμισμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Κύτταρα B-LCL-HROC278 | 302051****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Κύτταρα B-LCL-HROC278 | 302051****Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA αλληλόμορφα**

**A\***: '01:03:01, '25:01:01  
**B\***: '07:02:01, '18:01:01  
**C\***: '07:02:01, '12:03:01  
**DRB1\***: '04:01:01, '15:01:01  
**DQA1\***: '01:02:01, '03:01:01  
**DQB1\***: '03:02:01, '06:02:01  
**DPB1\***: '02:01:02, '04:01:02  
**E**: '01:01, '01:03