Product sheet

B-LCL-HROC72-solut | 302082

Yleisiä tietoja

Description	B-LCL-HROC72 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on perustettu aikuisten potilaiden kasvainkudoksesta tai perifeerisestä verestä eristetyistä B-lymfosyytteistä. Solut tuotettiin ex vivo -infektiolla EBV:tä sisältävällä supernatantilla, joka oli peräisin B95/8-marmosettisolulinjasta, syklosporiini A:n läsnä ollessa T- ja NK-solujen kasvun estämiseksi. Useiden viikkojen viljelyn jälkeen saavutettiin vakaa lymfoblastoidien kasvu, mikä johti jatkuvasti proliferoituvaan monoklonaaliseen tai oligoklonaaliseen B-solupopulaatioon, joka soveltui pitkäaikaiseen in vitro -laajennukseen. Immunofenotyyppisesti B-LCL-HROC72:lla on kypsä ja aktivoitunut B-soluprofiili, jolle on ominaista CD19- ja CD20-ekspressio sekä korkeat aktivaatio- ja kypsymismerkkiaineiden, kuten CD23 ja CD80, pitoisuudet. MHC-luokan I ja II molekyylien voimakas ekspressio osoittaa säilyneen antigeenien esittelykyvyn. Yksittäisestä kloonista riippuen voidaan havaita vaihtelevaa ilmentymistä erilaistumiseen liittyvistä merkkiaineista, kuten CD27, CD38 tai CD138, mikä heijastaa B-solujen kypsymisen eri vaiheita. Solut ovat negatiivisia T-solujen merkkiaineille, mikä vahvistaa linjan spesifisyyden. Toiminnallisesti B-LCL-HROC72 erittää määritellyn isotyypin immunoglobuliinia (esim. IgG, IgM tai IgA), joka pysyy vakaana pitkittyneen viljelyn aikana. Eritetyt vasta-aineet voidaan kerätä viljelmän supernatantista ja käyttää jatkokäsittelyyn, mukaan lukien antigeenisidontatestit, kasvainsolujen tunnistustutkimukset tai tautiin liittyvien antigeenien tunnistaminen. EBV-immortalisoituneena B-solumallina B-LCL-HROC72 tarjoaa vankan in vitro -alustan humoraalisen immuunivasteen, B-solujen aktivaation ja erilaistumisen sekä vasta-ainevälitteisten mekanismien tutkimiseen kasvainimmunologian tai systeemisen immuunivasteen kontekstissa.
Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	Paksusuolen syöpä
Metastatic site	Ei sovelleta (EBV:n muuntama B-LCL paksusuolisyöpäpotilaalta)
Applications	T- ja NK-solujen määritykset; HLA-tyypitys; antigeenien esittely; CTL-määrityksen kohdesolut; paksusuolisyöpään liittyvä immuunivaste; HROC72-potilaskohtaiset biopankkitutkimukset

Ominaisuudet

Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Lymfoblastimaiset (pyöreät solut suspensiossa)
Cell type	B-lymfoblasti
Growth properties	Jousitus

B-LCL-HROC72-solut | 302082

Sääntelytiedot

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytionin luettelonumero 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ei määritetty
GMO Status	GMO-S2: Tämä B-LCL-kanta sisältää stabiilisti ylläpidetyn EBV-episomin (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV on luokiteltu riskiryhmään 2; vaaditaan BSL-2-turvallisuustasoa. Tämä luokitus koskee Saksaa; muissa maissa määräykset voivat poiketa tästä.

Biomolekyylitiedot

Viruses	Muuntaja: EBV

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Subculturing	Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1 x 10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

B-LCL-HROC72-solut | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.