

**B-LCL-HROC75-solut | 302084****Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC75 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on perustettu aikuisten potilaiden kasvainkudoksesta tai perifeerisestä verestä eristetyistä B-lymfosyyteistä. 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 lisääntyvään monoklonaaliseen tai oligoklonaaliseen B-solupopulaatioon, joka sopii pitkäaikaiseen in vitro -laajennukseen.

Immunofenotyyppisesti B-LCL-HROC75:llä on kypsä ja aktivoitunut B-soluprofiili, jolle on ominaista CD19- ja CD20-ekspressio sekä korkeat aktivaatio- ja kypsymerkkiaineiden pitoisuudet, kuten CD23 ja CD80. MHC-luokan I ja II molekyyliden 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-HROC75 erittää määriteltyä isotyppiä (esim. IgG, IgM tai IgA) olevaa immunoglobuliinia, joka pysyy vakaana pitkittyneen viljelyn aikana. Erittyneet vasta-aineet voidaan kerätä viljelmän supernatantista ja käyttää jatkokäsittelyyn, mukaan lukien antigeenisidontatellit, kasvainsolujen tunnistustutkimukset tai tautiin liittyvien antigeenien tunnistaminen. EBV-immortalisoituna B-solumallina B-LCL-HROC75 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** Syöpä**Synonyms** Bc HROC75**Ominaisuudet****Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti**Growth properties** Jousitus

**B-LCL-HROC75-solut | 302084****Säätelytiedot**

<b>Citation</b>	B-LCL-HROC75 (Cytionin luettelonumero 302084)
<b>Biosafety level</b>	2
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_C0W6

**Biomolekyyli tiedot**

<b>Surface antigens</b>	CD19
<b>Viruses</b>	Muuntaja: EBV

**Käsittely**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
<b>Subculturing</b>	Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi $1 \times 10^5$ solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.
<b>Freeze medium</b>	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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**B-LCL-HROC75-solut | 302084****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä 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 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing  
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

## B-LCL-HROC75-solut | 302084

### Storage Conditions

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

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.