

BC-3-solut | 305748

Yleisiä tietoja

Description

BC-3-solulinja on ihmisen primaarisen effuusio-lymfooman (PEL) malli, joka on peräisin HIV-negatiivisen potilaan keuhkopussinesteestä. Se edustaa harvinaista B-solujen non-Hodgkin-lymfooman alatyyppeä, joka ilmenee tyypillisesti lymfoottisina nesteen kertymisinä kehon onteloissa, kuten keuhkopussissa, sydänpussissa tai vatsakalvossa, usein ilman havaittavia kiinteitä kasvainmassoja. BC-3 erottuu siitä, että se on tartunnan saanut yksinomaan Kaposin sarkoomaan liittyvällä herpesviruksella (KSHV tai HHV-8) ja että siinä ei esiinny lainkaan Epstein-Barr-virusta (EBV). Tämä ominaisuus erottaa sen useimmista muista PEL-solulinjoista, jotka ovat tyypillisesti kaksoistartunnan saaneita.

Immunofenotyyppisesti BC-3-solut ilmentävät leukosyyttien yhteistä antigeeniä (CD45), mutta niiltä puuttuvat klassiset B-solujen (esim. CD19, CD20, CD21, CD22) ja T-solujen (esim. CD2, CD3, CD4, CD5, CD8) linjamerkit, mikä on yhdenmukaista PEL:n erilaistumattoman immunofenotyypin kanssa. Niissä esiintyy kuitenkin vaihtelevaa aktivaatiomerkkien, kuten CD30:n, CD38:n, CD54:n ja HLA-DR:n, ilmentymistä. Genotyyppisesti BC-3:ssa esiintyy klonaalisia immunoglobuliinigeenien uudelleenjärjestelyjä, jotka viittaavat B-soluperäisyyteen, mutta c-myc-onkogeenin uudelleenjärjestelyä ei esiinny. Merkittävästi Southern-blot- ja PCR-analyysit vahvistivat ehjän ~170 kb:n KSHV-genomin läsnäolon, ja elektronimikroskopia osoitti herpesviruksen kaltaisia kapsideja, mikä vahvisti linjan tuottavaksi lähteeksi tarttuville KSHV-partikkeleille.

BC-3 sisältyy LL-100-paneeliin, joka koostuu leukemia- ja lymfoomasolulinjoista, ja se ryhmittyy transkriptomianalyseissä selvästi muiden PEL-mallien kanssa. Se ilmentää PEL:lle tyypillisiä geenejä, kuten PRDM1/BLIMP1, IL-10, SLAMF7 ja S100A-perheen jäseniä. Nämä merkkiaineet heijastavat germinaalikeskuksen jälkeistä B-solufenotyyppiä ja korostavat BC-3:n käyttökelpoisuutta biologisesti merkittävänä mallina KSHV:n patogeneesin, PEL:n biologian ja KSHV:hen liittyvien pahanlaatuisten kasvainten hoitostrategioiden tutkimuksessa.

Organism Ihminen**Tissue** Pleuraeffuusio**Disease** Primaarinen effuusio-lymfooma**Applications** Immunologia**Synonyms** BC3

Ominaisuudet

Age 85 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen

BC-3-solut | 305748

Morphology Lymfoblastit**Growth properties** Jousitus

Säätelytiedot

Citation BC-3 (Cytion-tuotenumero 305748)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1080

Biomolekyylitiedot

Antigen expression CD30+; CD38+; CD45+; CD54+; CD71+; HLA-DR+; EMA+ (epiteelikalvoantigeeni); CD2-; CD3-; CD4-; CD5-, CD8-; CD19-; CD20-; CD21-; CD22-**Mutational profile** Mutaatio: Geenipoisto, CDKN2A, homotsygoottinen

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 20 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Ei mitään**Doubling time** noin 50–60 tuntia**Seeding density** $2,5-10 \times 10^5 \text{ solua/cm}^2$ **Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

BC-3-solut | 305748

Freeze medium

Kryosäilytysväliaineena käytämme täydellistä kasvualustaa (joka sisältää FBS:ää) + **5 % DMSO:ta**, jotta solujen elinkelpoisuus sulatuksen jälkeen olisi riittävä, tai CM-1:tä (Cytion-tuotenumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoottisia suoja-aineita ja aineenvaihdunnan stabilisaattoreita elpymisen parantamiseksi ja kryosäilytyksestä johtuvan stressin vähentämiseksi.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä 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 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

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.

BC-3-solut | 305748

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä 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 ja molekyylianalyysi

Sterility

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

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