

B-LCL-HROC277-solut | 300867**Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC277 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 soveltui pitkäaikaiseen in vitro -laajennukseen.

Immunofenotyyppisesti B-LCL-HROC277:llä on kypsä ja aktivoitunut B-soluprofiili, jolle on ominaista CD19- ja CD20-ekspressio sekä korkeat aktivaatio- ja kypsymismerkkiaineiden 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-HROC277 erittää määriteltyä isotyyppejä (esim. IgG, IgM tai IgA) olevaa immunoglobuliinia, joka pysyy vakaana pitkittyneen viljelyn aikana. Erittynyt vasta-aine voidaan kerätä viljelmän supernatantista ja käyttää jatkokäsittelyyn, kuten antigeenisidontatesteihin, kasvainsolujen tunnistustutkimuksiin tai tautiin liittyvien antigeenien tunnistamiseen. EBV-immortalisoituna B-solumallina B-LCL-HROC277 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** B-LCL CO277, Bc HROC277**Ominaisuudet****Age** 77 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti

B-LCL-HROC277-solut | 300867

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation B-LCL-HROC277 (Cytionin luettelonumero 300867)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_YD54

Biomolekyylitiedot

Surface antigens CD19

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 1×10^5 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-HROC277-solut | 300867

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

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.

B-LCL-HROC277-solut | 300867

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.

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

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

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

HLA-alleelit

A*: '02:01:01, '32:01:01

B*: '15:17:01, '35:03:01

C*: '04:01:01, '07:01:02

DRB1*: '11:01:06, '13:02:01

DQA1*: '01:02:01, '05:05:01

DQB1*: '13:01:01, '06:04:01

DPB1*: '02:01:02, '350:01:00

E: '01:01, '01:03