

B-LCL-HROC103-solut | 302020**Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC103 on Epstein-Barr-viruksen (EBV) avulla ikuistettu ihmisen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka on perustettu aikuisten potilaiden kasvainkudoksesta tai ääreisverestä 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 proliferoituvaan monoklonaaliseen tai oligoklonaaliseen B-solupopulaatioon, joka soveltuu pitkäaikaiseen in vitro -laajentumiseen.

Immunofenotyyppisesti B-LCL-HROC103:lla on kypsä ja aktivoitunut B-soluprofiili, jolle on ominaista CD19- ja CD20-ilmentyminen sekä korkeat aktivaatio- ja kypsymismerkkiaineiden, kuten CD23 ja CD80, pitoisuudet. MHC-luokan I ja II molekyyliden voimakas ilmentyminen 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-[MALLINIMI] erittää määriteltyä isotyyppeä (esim. IgG, IgM tai IgA) olevaa immunoglobuliinia, joka pysyy vakaana pitkittyneen viljelyn aikana. Erittynyt vasta-aine voidaan kerätä viljelmän supernatantista ja käyttää jatkokäsittelyyn, mukaan lukien antigeenisidontatellit, kasvainsolujen tunnistustutkimukset tai tautiin liittyvien antigeenien tunnistaminen. EBV-immortalisoituneena B-solumallina B-LCL-HROC103 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 HROC103**Ominaisuudet****Age** Ikä määrittelemätön**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti

B-LCL-HROC103-solut | 302020

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation B-LCL-HROC103 (Cytionin luettelonumero 302020)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7FE

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-HROC103-solut | 302020

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 jäädästä 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

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-HROC103-solut | 302020

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 / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

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

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

HLA-alleelit

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

B*: '07:02:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '07:02:01

DRB1*: '07:01:01, '15:01:01

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

DQB1*: '02:02:01, '06:02:01

DPB1*: '04:01:01, '13:01:01G

E: '01:01:01