

B-LCL-HROC112-solut | 302023**Yleisiä tietoja****Description**

B-LCL-HROC112 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 proliferoituvaan monoklonaaliseen tai oligoklonaaliseen B-solupopulaatioon, joka soveltui pitkäaikaiseen in vitro -laajennukseen.

Immunofenotyyppisesti B-LCL-HROC112: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-HROC112 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 antigeenisidontatetit, kasvainsolujen tunnistustutkimukset tai tautiin liittyvien antigeenien tunnistaminen. EBV-immortalisoituna B-solumallina B-LCL-HROC112 tarjoaa vankan in vitro -alustan humoraalisten immuunivasteiden, B-solujen aktivaation ja erilaistumisen sekä vasta-ainevälitteisten mekanismien tutkimiseen kasvainimmunologian tai systeemisten immuunivasteiden kontekstissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Perifeerinen veri

Disease

Syöpä

Metastatic site

Not applicable (EBV-transformed B-LCL from CRC patient; suspension culture)

Applications

T cell and NK cell assays; HLA typing; antigen presentation studies; CTL assay target cells; colorectal cancer immunology; patient-matched HROC biobank studies

Synonyms

B-LCL CO112, Bc HROC112 Bc HROC112

Ominaisuudet**Age**

80 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Caucasian

B-LCL-HROC112-solut | 302023**Morphology** Pyöreät kennot**Cell type** B-lymfoblasti**Growth properties** Jousitus**Säätelytiedot****Citation** B-LCL-HROC112 (Cytionin luettelonumero 302023)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** Not assigned**GMO Status** GMO-S2: This B-LCL contains a stably maintained EBV episome (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV is classified as risk group 2; BSL-2 containment required. This classification applies within Germany; regulations may differ elsewhere.**Biomolekyylytiedot****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 %:lla 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-HROC112-solut | 302023**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-HROC112-solut | 302023

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 määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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