

B-LCL-HROC50 sejtek | 302069

Általános információk

Description

A B-LCL-HROC50 egy Epstein-Barr vírus (EBV) által halhatatlanná tett humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet felnőtt betegek tumoros szövetéből vagy perifériás véréből izolált B-limfocitákból hoztak létre. A sejteket ex vivo fertőzéssel állították elő EBV-t tartalmazó felülúszóval, amelyet a B95/8 marmoset sejtvonalból nyertek ki ciklosporin A jelenlétében a T- és NK-sejtek növekedésének gátlására. Több hetes tenyésztés után stabil limfoblasztos növekedést értek el, amelynek eredményeként folyamatosan szaporodó monoklonális vagy oligoklonális B-sejt populáció jött létre, amely alkalmas hosszú távú in vitro tenyésztésre.

Immunfenotípusában a B-LCL-HROC50 érett és aktivált B-sejt profilt mutat, amelyet CD19 és CD20 expresszió, valamint magas szintű aktivációs és érésmarkerek, például CD23 és CD80 jellemeznek. Az MHC I. és II. osztályú molekulák erős expressziója az antigénprezentáló képesség megőrződését jelzi. Az egyes klónoktól függően változó expresszió figyelhető meg a differenciálódással kapcsolatos markerekben, mint például a CD27, CD38 vagy CD138, ami a B-sejtek érésének különböző stádiumait tükrözi. A sejtek negatívak a T-sejt markerekre, ami megerősíti a vonal specificitását.

Funkcionálisan a B-LCL-HROC50 meghatározott izotípusú immunglobulint (pl. IgG, IgM vagy IgA) szekretál, amely hosszan tartó tenyésztés során is stabil marad. A kiválasztott antitestek a tenyészet felülúszójából gyűjthetők össze és felhasználhatók további alkalmazásokhoz, beleértve az antigénköti vizsgálatokat, a tumorsejt-felismerési tanulmányokat vagy a betegségekkel kapcsolatos antigének azonosítását. EBV-immortalizált B-sejt modellként a B-LCL-HROC50 robusztus in vitro platformot biztosít a humorális immunválaszok, a B-sejtek aktiválása és differenciálódása, valamint az antitestek által közvetített mechanizmusok vizsgálatához a tumorimmunológia vagy a szisztémás immunválaszok kontextusában.

Organism Emberi

Tissue Perifériás vér

Disease Karcinóma

Synonyms Bc HROC50

Jellemzők

Age 67 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Kerek cellák

Cell type B lymphoblast

B-LCL-HROC50 sejtek | 302069

Growth properties Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation B-LCL-HROC50 (Cytion katalógusszám: 302069)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A7UQ

Biomolekuláris adatok

Surface antigens CD19

Viruses Transzformáns: EBV

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki

Subculturing A lombikban lévő sejtuszpenziót óvatosan homogenizálja fel-le pipettázással, majd vegyen egy reprezentatív mintát a sejtsűrűség ml-enkénti meghatározásához. A szuszpenziót hígítsa friss tenyésztőközeggel 1×10^5 sejt/ml sejtkoncentráció eléréséig, majd az így beállított szuszpenziót új lombikokba osztva továbbtenyésztse.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

B-LCL-HROC50 sejtek | 302069**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

B-LCL-HROC50 sejtek | 302069

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

A*: '02:01:01, '03:01:01

B*: '07:02:01, '27:01:01

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

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

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

DQB1*: '03:03:02, '06:02:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01, '01:03:02