Product sheet

B-LCL-HROC72 ląstelės | 302082

Bendra informacija

Description	B-LCL-HROC72 yra Epstein-Barr viruso (EBV) nemirtinga žmogaus B limfoblastoidų ląstelių linija, sukurta iš B limfocitų, izoliuotų iš suaugusio paciento naviko audinio arba periferinio kraujo. Ląstelės buvo sukurtos ex vivo infekuojant EBV turinčiu supernatantu, gautu iš B95/8 marmosetų ląstelių linijos, esant ciklosporinui A, kuris slopina T ir NK ląstelių augimą. Po kelių savaičių kultivavimo buvo pasiektas stabilus limfoblastoidų augimas, dėl kurio susiformavo nuolat besidauginanti monokloninė arba oligokloninė B ląstelių populiacija, tinkama ilgalaikiam in vitro augimui. Imunofenotipiškai B-LCL-HROC72 pasižymi brandžios ir aktyvuotos B ląstelės profiliu, kuriam būdinga CD19 ir CD20 ekspresija, kartu su aukštu aktyvacijos ir brendimo žymenų, tokių kaip CD23 ir CD80, lygiu. Stipri MHC I ir II klasės molekulių ekspresija rodo išsaugotą antigenų pateikimo gebą. Priklausomai nuo individualaus klono, gali būti stebimas kintamas diferenciacijos žymenų, tokių kaip CD27, CD38 arba CD138, ekspresija, atspindinti skirtingus B ląstelių brendimo etapus. Ląstelės yra neigiamos T ląstelių žymenims, patvirtindamos linijos specifiškumą. Funkciniu požiūriu, B-LCL-HROC72 išskiria imunoglobuliną, turinčią apibrėžtą izotipą (pvz., IgG, IgM arba IgA), kuris išlieka stabilus ilgai trunkančioje kultūroje. Išskirti antikūnai gali būti surinkti iš kultūros supernatanto ir naudojami tolesniems taikymams, įskaitant antigenų rišimosi tyrimus, naviko ląstelių atpažinimo tyrimus arba su liga susijusių antigenų identifikavimą. Kaip EBV nemirtingas B ląstelių modelis, B-LCL-HROC72 suteikia tvirtą in vitro platformą humoralinių imuninių atsakų, B ląstelių aktyvacijos ir diferenciacijos bei antikūnų mediatorių mechanizmų tyrimams naviko imunologijos arba sisteminių imuninių atsakų kontekste.
Organism	Žmogus
Tissue	Periferinis kraujas
Disease	Storosios žarnos karcinoma
Metastatic site	Netaikoma (EBV transformuotos B-LCL ląstelės, paimtos iš storosios žarnos karcinomos sergančio paciento)
Applications	T ląstelių ir NK ląstelių tyrimai; HLA tipavimas; antigenų pateikimas; CTL tyrimo taikinio ląstelės; su storosios žarnos vėžiu susijęs imuninis atsakas; HROC72 tyrimai, atliekami naudojant pacientams pritaikytą biologinį banką

Charakteristikos

Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Limfoblastų tipo (apvalios ląstelės suspensijoje)
Cell type	B limfoblastas

B-LCL-HROC72 ląstelės | 302082

Growth properties	Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytion katalogo numeris 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nepaskirta
GMO Status	GMO-S2: Šiose B-LCL ląstelėse yra stabiliai išlaikytas EBV episomas (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). EBV priskiriamas 2-ajai rizikos grupei; būtina BSL-2 saugos lygio izoliacija. Ši klasifikacija galioja Vokietijoje; kitose šalyse reikalavimai gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: EBV

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS
Subculturing	Švelniai homogenizuokite kolboje esantį ląstelių suspensiją, pipetuodami aukštyn ir žemyn, tada paimkite reprezentatyvią mėginį, kad nustatytumėte ląstelių tankį ml. Praskieskite suspensiją, kad pasiektumėte 1 x 10^5 ląstelių/ml koncentraciją šviežia kultūrinė terpė, ir padalinkite pakoreguotą suspensiją į naujas kolbas tolesniam auginimui.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

B-LCL-HROC72 ląstelės | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.