Product sheet

B-LCL-HROC75 šūnas | 302084

Vispārīga informācija

Description	B-LCL-HROC75 ir Epšteina-Barra vīrusa (EBV) imortalizēta cilvēka B limfoblastoīdu šūnu līnija, kas izveidota no B limfocītiem, kuri izdalīti no pieaugušā pacienta audzēja audiem vai perifērajā asinīs. Šūnas tika radītas, ex vivo inficējot ar EBV saturošu supernatantu, kas iegūts no B95/8 marmoset šūnu līnijas, klātbūtnē ciklosporīna A, lai nomāktu T- un NK-šūnu augšanu. Pēc vairāku nedēļu kultivēšanas tika panākta stabila limfoblastoīdu augšana, rezultātā iegūstot nepārtraukti proliferējošu monoklonālu vai oligoklonālu B-šūnu populāciju, kas piemērota ilgtermiņa in vitro ekspansijai. Imunofenotipiski B-LCL-HROC75 uzrāda nobriedušu un aktivētu B šūnu profilu, kam raksturīga CD19 un CD20 ekspresija, kā arī augsts aktivācijas un nobriešanas marķieru, piemēram, CD23 un CD80, līmenis. Spēcīga MHC I un II klases molekulu ekspresija norāda uz saglabātu antigēnu prezentēšanas spēju. Atkarībā no atsevišķa klona var novērot mainīgu diferenciācijai saistītu marķieru, piemēram, CD27, CD38 vai CD138, ekspresiju, kas atspoguļo dažādus B šūnu nobriešanas posmus. Šūnas ir negatīvas attiecībā uz T šūnu marķieriem, kas apstiprina cilts specifiskumu. Funkcionāli B-LCL-HROC75 izdalīta imūnglobulīna definēta izotipa (piemēram, IgG, IgM vai IgA), kas paliek stabils ilgstošas kultivēšanas laikā. Sekretētās antivielas var savākt no kultūras supernatantiem un izmantot turpmākām lietojumprogrammām, tostarp antigēnu saistīšanās testiem, audzēju šūnu atpazīšanas pētījumiem vai ar slimību saistītu antigēnu identifikācijai. Kā EBV imortalizēts B šūnu modelis, B-LCL-HROC75 nodrošina stabilu in vitro platformu humoro imūnreakciju, B šūnu aktivācijas un diferenciācijas, kā arī antivielu mediētu mehānismu izpētei audzēju imunoloģijas vai sistēmisko imūnreakciju kontekstā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Perifērās asinis
Disease	Karcinoma
Synonyms	Bc HROC75

Raksturojums

Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Apaļas šūnas
Cell type	B limfoblasts
Growth properties	Apturēšana

Product sheet

B-LCL-HROC75 šūnas | 302084

Normatīvie dati

Citation	B-LCL-HROC75 (Cytion kataloga numurs 302084)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C0W6

Biomolekulārie dati

Surface antigens	CD19
Viruses	Transformants: EBV

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS
Subculturing	Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1 x 10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

B-LCL-HROC75 šūnas | 302084

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

B-LCL-HROC75 šūnas | 302084

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.