

BC-3 šūnas | 305748

Vispārīga informācija

Description

BC-3 šūnu līnija ir cilvēka primārās efūzijas limfomas (PEL) modelis, kas iegūts no HIV negatīva pacienta pleiras efūzijas. Tā pārstāv retu B šūnu nehodžkina limfomas apakštipu, kas parasti izpaužas kā limfomatozas efūzijas ķermeņa dobumos, piemēram, pleirā, perikardā vai peritoneumā, bieži vien bez konstatējamām cietām audzējumiem. BC-3 atšķiras ar to, ka tā ir inficēta tikai ar Kapoši sarkomai asociēto herpesvīrusu (KSHV vai HHV-8) un tajā pilnībā nav Epšteina-Barra vīrusa (EBV), kas to atšķir no vairuma citu PEL šūnu līniju, kuras parasti ir inficētas ar abiem vīrusiem.

Imunofenotipiski BC-3 šūnas ekspresē leikocītu kopējo antigēnu (CD45), bet tām trūkst klasisko B šūnu (piem., CD19, CD20, CD21, CD22) un T šūnu (piem., CD2, CD3, CD4, CD5, CD8) ciltslīnijas marķieru, kas atbilst PEL nediferencētajam imunofenotipam. Tomēr tām ir novērojama mainīga aktivācijas marķieru, piemēram, CD30, CD38, CD54 un HLA-DR, ekspresija. Ģenotipiski BC-3 uzrāda klonālas imūnglobulīna gēnu pārkārtojumus, kas liecina par B šūnu izcelsmi, bet tajās nav c-myc onkogēna pārkārtojumu. Svarīgi, ka Southern blot un PCR analīzes apstiprināja neskartas ~170 kb KSHV genoma klātbūtni, un elektronmikroskopija parādīja herpesvīrusam līdzīgas kapsīdas, apstiprinot šo līniju kā produktīvu infekciozo KSHV daļiņu avotu.

BC-3 ir iekļauts LL-100 leikēmijas un limfomas šūnu līniju panelī un transkriptomiskajās analīzēs izceļas kopā ar citiem PEL modeļiem. Tas izrāda PEL raksturīgo gēnu, piemēram, PRDM1/BLIMP1, IL-10, SLAMF7 un S100A ģimenes locekļu, ekspresiju. Šie marķieri atspoguļo pēcgēnētiskā centra B šūnu fenotipu un uzsver BC-3 lietderību kā bioloģiski nozīmīgu modeli KSHV patogēnēzes, PEL bioloģijas un terapeitisko stratēģiju izpētei, kas vērstas uz KSHV saistītiem ļaundabīgiem audzējumiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Pleiras izsvīdums

Disease

Primārā efūzijas limfoma

Applications

Imunoloģija

Synonyms

BC3

Raksturojums

Age

85 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Limfoblasts

BC-3 šūnas | 305748

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

Citation

BC-3 (Cytion kataloga numurs 305748)

Biosafety level

2

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1080

Biomolekulārie dati

Antigen expression

CD30+; CD38+; CD45+; CD54+; CD71+; HLA-DR+; EMA+ (epiteliālais membrānas antigēns); CD2-; CD3-; CD4-; CD5-, CD8-; CD19-; CD20-; CD21-; CD22-

Mutational profile

Mutācija: Gēna delecija, CDKN2A, homozigota

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 20% FBS

Dissociation Reagent

Neviens

Doubling time

aptuveni 50–60 stundas

Seeding density

2,5 līdz 10×10^5 šūnu/cm²

Fluid renewal

2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium

Kā kriokonservācijas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + **5 % DMSO**, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai arī CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas satur optimizētus osmoaizsargvielas un vielmaiņas stabilizatorus, lai uzlabotu atjaunošanos un mazinātu krioinducētu stresu.

BC-3 šūnas | 305748**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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**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 slāpekļī 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

BC-3 šūnas | 305748

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.