

**B-LCL-HROC50 šūnas | 302069****Vispārīga informācija****Description**

B-LCL-HROC50 ir Epšteina-Barra vīrusa (EBV) imortalizēta cilvēka B limfoblastoīdu šūnu līnija, kas izveidota no B limfocītiem, izolētiem 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-HROC50 uzrāda nobriedušu un aktīvu 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 diferenciacijai 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 cilmes specifiskumu.

Funkcionāli B-LCL-HROC50 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-HROC50 nodrošina stabili in vitro platformu humoro imūnreakciju, B šūnu aktivācijas un diferenciacijas, kā arī antivielu mediētu mehānismu izpētei audzēju imunoloģijas vai sistēmisko imūnreakciju kontekstā.

**Organism** Cilvēks**Tissue** Perifērās asinis**Disease** Karcinoma**Synonyms** Bc HROC50**Raksturojums****Age** 67 gadi**Gender** Sievietes**Ethnicity** Kaukāzietis**Morphology** Apaļas šūnas**Cell type** B limfoblasts

**B-LCL-HROC50 šūnas | 302069**

**Growth properties** Apturēšana

**Normatīvie dati**

**Citation** B-LCL-HROC50 (Cytion kataloga numurs 302069)

**Biosafety level** 2

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_A7UQ

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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  $1 \times 10^5$  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-HROC50 šūnas | 302069****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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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-HROC50 šūnas | 302069

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### 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.

### HLA alēles

**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