

Komórki BC-3 | 305748

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa BC-3 stanowi model pierwotnego chłoniaka wysiękowego (PEL) pochodzącego z wysięku opłucnowego pacjenta bez zakażenia wirusem HIV. Reprezentuje ona rzadki podtyp chłoniaka nieziarnicznego z komórek B, który zazwyczaj objawia się wysiękami chłoniakowymi w jamach ciała, takich jak opłucna, osierdzie lub otrzewna, często przy braku wykrywalnych guzów litych. BC-3 wyróżnia się wyłącznie infekcją wirusem opryszczki związanym z mięsakiem Kaposiego (KSHV lub HHV-8) oraz całkowitym brakiem wirusa Epsteina-Barra (EBV), co odróżnia ją od większości innych linii komórkowych PEL, które zazwyczaj są podwójnie zakażone.

Pod względem immunofenotypowym komórki BC-3 wykazują ekspresję wspólnego antygenu leukocytów (CD45), ale nie posiadają klasycznych markerów linii komórek B (np. CD19, CD20, CD21, CD22) i komórek T (np. CD2, CD3, CD4, CD5, CD8), co jest zgodne z niezróżnicowanym immunofenotypem PEL. Wykazują one jednak zmienną ekspresję markerów aktywacji, takich jak CD30, CD38, CD54 i HLA-DR. Pod względem genotypowym BC-3 wykazuje klonalne rearanżacje genów immunoglobulin wskazujące na pochodzenie z komórek B, ale nie wykazuje rearanżacji onkogenu c-myc. Co istotne, analizy metodą Southern blot i PCR potwierdziły obecność nienaruszonego genomu KSHV o wielkości ~170 kb, a mikroskopia elektronowa wykazała kapsydy podobne do wirusów opryszczki, potwierdzając, że linia ta jest produktywnym źródłem zakaźnych cząstek KSHV.

BC-3 jest uwzględniony w panelu LL-100 linii komórkowych białaczki i chłoniaka i w analizach transkryptomicznych wyraźnie skupia się z innymi modelami PEL. Wykazuje ekspresję genów charakterystycznych dla PEL, takich jak PRDM1/BLIMP1, IL-10, SLAMF7 oraz członków rodziny S100A. Markery te odzwierciedlają fenotyp komórek B po fazie centrum germinacyjnego i podkreślają przydatność BC-3 jako biologicznie istotnego modelu do badania patogenezы KSHV, biologii PEL oraz strategii terapeutycznych ukierunkowanych na nowotwory złośliwe związane z KSHV.

Organism Człowiek**Tissue** Wysięk opłucnowy**Disease** Chłoniak z wysiękiem pierwotnym**Applications** Immunologia**Synonyms** BC3

Charakterystyka

Age 85 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski

Komórki BC-3 | 305748

Morphology Limfoblast**Growth properties** Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation BC-3 (numer katalogowy Cytion 305748)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1080

Dane biomolekularne

Antigen expression CD30+; CD38+; CD45+; CD54+; CD71+; HLA-DR+; EMA+ (antygen błony nabłonkowej); CD2-; CD3-; CD4-; CD5-, CD8-; CD19-; CD20-; CD21-; CD22-**Mutational profile** Mutacja: delecja genu CDKN2A, homozygotyczna

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 20% FBS**Dissociation Reagent** Brak**Doubling time** ok. 50–60 godzin**Seeding density** od 2,5 do 10×10^5 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki BC-3 | 305748**Freeze medium**

Jako pożywkę do kriokonserwacji stosujemy kompletną pożywkę wzrostową (zawierającą surowicę płodową bydlęcą) + **5% DMSO** w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności komórek po rozmrożeniu lub preparat CM-1 (nr katalogowy Cytion 800100), który zawiera zoptymalizowane środki osmoochronne i stabilizatory metaboliczne mające na celu poprawę odzysku komórek oraz zmniejszenie stresu wywołanego krioprzetwarzaniem.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki BC-3 | 305748

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.