

Komórki B-LCL-HROG04 | 302107**Informacje ogólne****Description**

B-LCL-HROG04 to nieśmiertelna linia komórek limfoblastycznych B człowieka, uodporniona wirusem Epsteina-Barra (EBV), wyhodowana z limfocytów B izolowanych z tkanki nowotworowej lub krwi obwodowej dorosłego pacjenta. Komórki zostały wygenerowane poprzez zakażenie ex vivo supernatantu zawierającego wirusa EBV pochodzącego z linii komórkowej B95/8 marmozety w obecności cyklosporyny A w celu zahamowania wzrostu komórek T i NK. Po kilku tygodniach hodowli uzyskano stabilny wzrost limfoblastów, co doprowadziło do powstania stale proliferującej populacji komórek B monoklonalnych lub oligoklonalnych, odpowiedniej do długotrwałej ekspansji in vitro.

Pod względem immunofenotypowym B-LCL-HROG04 wykazuje profil dojrzałych i aktywowanych komórek B, charakteryzujący się ekspresją CD19 i CD20, wraz z wysokim poziomem markerów aktywacji i dojrzewania, takich jak CD23 i CD80. Silna ekspresja cząsteczek MHC klasy I i klasy II wskazuje na zachowaną zdolność prezentacji antygenów. W zależności od poszczególnych klonów można zaobserwować zmienną ekspresję markerów związanych z różnicowaniem, takich jak CD27, CD38 lub CD138, odzwierciedlającą różne etapy dojrzewania komórek B. Komórki są ujemne pod względem markerów komórek T, co potwierdza specyfikę linii komórkowej.

Pod względem funkcjonalnym B-LCL-HROG04 wydziela immunoglobuliny o określonym izotypie (np. IgG, IgM lub IgA), które pozostają stabilne podczas długotrwałej hodowli. Wydzielane przeciwciała można pobrać z supernatantu hodowli i wykorzystać do dalszych zastosowań, w tym do testów wiązania antygenów, badań rozpoznawania komórek nowotworowych lub identyfikacji antygenów związanych z chorobą. Jako model komórek B unieśmiertelnionych przez wirusa EBV, B-LCL-HROG04 stanowi solidną platformę in vitro do badania humoralnych odpowiedzi immunologicznych, aktywacji i różnicowania komórek B oraz mechanizmów pośredniczonych przez przeciwciała w kontekście immunologii nowotworów lub ogólnoustrojowych odpowiedzi immunologicznych.

Organism Człowiek**Tissue** Krew obwodowa**Disease** Rak**Synonyms** Bc HROG04**Charakterystyka****Age** 53 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Okrągłe komórki

Komórki B-LCL-HROG04 | 302107**Cell type** Limfoblast B**Growth properties** Zawieszenie**Dane regulacyjne****Citation** B-LCL-HROG04 (numer katalogowy Cytion 302107)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C7GY**Depositor** M. Linnebacher**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: EBV**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS inaktywowanym termicznie**Subculturing** Delikatnie homogenizowac zawiesine komorek w kolbie, pipetujac w gore i w dol, a nastepnie pobrac reprezentatywna probke w celu okreslenia gestosci komorek na ml. Rozcieniczyc zawiesine swiezym podlozem hodowlanym, aby uzyskac stezenie komorek wynoszace 1×10^5 komorek/ml, a nastepnie podzielic dostosowana zawiesine na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.**Freeze medium** Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywotnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki B-LCL-HROG04 | 302107**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 zawieszonych, 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.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki B-LCL-HROG04 | 302107

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 / Profil genetyczny / HLA

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.

Allele HLA

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '08:01:01, '51:01:01
C*: '07:01:01, '15:02:01
DRB1*: '03:01:01, '11:01:01
DQA1*: '05:01:01, '05:05:01
DQB1*: '02:01:01, '03:01:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:01:01